Vol. VIII. 1931.

Acta Societatis Botanicorum Poloniae

Organ Polskiego Towarzystwa Botanicznego
Publication de la Société Botanique de Pologne

Wydano z zasiłkiem Ministerstwa WR i OP i Funduszu Kultury Narodowej

WARSZAWA

DRUKARNIA LUDOWA W KRAKOWIE.

SPIS RZECZY ALFABETYCZNY TOMU VIII.
(TABLE DE MATIÈRES ALPHABETIQUE AU VOL. VIII).

Acta Societatis Botanicorum Poloniae
Vol. VIII, Nr. 1 i 2, 1931.

Cytolyse bei *Nicotiana* und *Larix*.

Von

Z. WÓYCICKI.

(Tablice I—II).

Die Prozesse, welche sich während der Antheren- und Pollenentwicklung bei Bastarden abspielen, interessierten schon lange sowohl Genetiker wie auch Cytologen. In den letzten Zeiten ist das diesbezügliche Interesse noch gewachsen, besonders wegen der Beziehungen der sog. „gonischen Letalfaktoren" zu den „zygotischen Letalfaktoren", wofür die Arbeit von Oehlkers aus dem Jahre 1927 einen Beweis liefert. In seinen Betrachtungen über das Thema der verschiedenen „Hemmungserscheinungen" sagt Oehlkers: „Die Haplophase der höheren Pflanzen ist ein unselbständiges Gebilde und in völliger Abhängigkeit von der Diplophase; man muss also damit rechnen, dass spät manifest werdende Faktoren in ihrer Wirkung auf die Haplophase übergreifen können, auch wenn sie in dieser selbst nicht wirksam sind. Ein anschauliches Beispiel dafür liefert"[1]), nach der Ansicht des Autors, „die Pollensterilität einiger Formen aus der F_2 der Kreuzung *Oenothera (suaveolens* $\times$ *strigosa) flava*"[2]). „...Wir haben es", — wie sich Oehlkers ausdrückt, „mit einer ganz spät auftretenden somatischen Störung[3]) der Antherenentwicklung zu tun (vielleicht einer Fehlsekretion des Tapetums), wodurch die schon gebildeten Haplonten zerstört werden"[4]). Indem dieser Autor in genannter Arbeit die Erscheinung der Pollensterilität bei *Oenothera Lamarckiana lata* analysiert und die Resultate der histologischen Untersuchungen Pohl's 1895,

---

1) Fr. Oehlkers, l. c., p. 273.
2) L. c., p. 265.
3) Von mir gesperrt.
4) Fr. Oehlkers, l. c., p. 273.

Gates (1907 u. 1913), wie auch seiner eigenen (über *Oe. [suaveolens × strigosa] flava)* einer näheren Betrachtung unterzieht, kommt er zur Überzeugung, dasz: „Wenn man diese Darstellung von Gates mit der von Pohl und der im ersten Teil gegebenen unserer sterilen Form vergleicht, so scheint mir ein prinzipieller Unterschied darin zu liegen, dasz bei den von Gates untersuchten Pflanzen andersartige Beziehungen zwischen den Tapeten- und den Pollenmutterzellen im Degenerationsprozesz bestehen: während in Gates-Beschreibungen die mangelhafte Ausbildung resp. frühe (den Pollenmutterzellen vorhergehende) Zerstörung des Tapetums als primäre Ursache erscheint, ist es in unserem und in dem von Pohl gegebenen Fall gerade eine zu starke, hypertropische Ausbildung des Tapetums, das dann freilich später, nach erfolgter Auflösung des Pollens selbst mit in den allgemeinen Degenerationsprozesz im Pollenfach hineingezogen wird“ [1]). Die Ansichten von Pohl und Oehlkers unterstützte G. Tischler in seiner Arbeit unter dem Titel „Chromosomenstudien bei *Ribes Gordonianum* und seinen Eltern“ (1927). Das Erfüllen der Höhlung der Anthere durch die Tapetenzellen beschreibend, sagt er: „Die ganze Erscheinung erinnert an die jüngst von Oehlkers (1927) bei *Oenothera* beschriebene, in der die älteren Angaben von Pohl (1895) bestätigt wurden“ [2]). Die Ursachen dieser Erscheinung erwägend, meint Tischler: „...dasz es nahe läge, an Haberlandt's (1921) Nekrohormone dabei zu denken, die von den zahlreichen absterbenden Pollenkörnern ausgehen und zur Teilung veranlassen könnten, sofern sie selbst noch nicht in tatsächlicher Degeneration sind. Normal sind die Tapetenzellen bereits so geschädigt, dass eine Teilung und „Wucherung“ unmöglich geworden ist“ [3]).

Dieser Ansicht ist zum Teile auch F. Brieger (1928), denn in Beantwortung der Frage: „...ob es sich bei diesen Wucherungen um eine Wirkung von Wundreizstoffen handelt, die von dem absterbenden Gewebe, dem Archespor oder den sich daraus entwickelnden Haplonten, ausgeht, oder ob umgekehrt das Absterben des Archespor, bezw. der Gametophyten erst diese Wucherung bedingt“ [4]), sagt er: „Mir scheint die zweite Alternative wahrscheinlicher“ [5]). Er stimmt jedoch nicht der Meinung Oehlkers in der

[1]) L. c., p. 275.
[2]) G. Tischler, l. c., p. 636.
[3]) L. c., p. 636.
[4]) L. c., p. 344.
[5]) L. c., p. 344.

Interpretation des Charakters beider Prozesse bei. Wenn es sich nämlich — nach Oehlkers — hier „...um zwei prinzipiell voneinander verschiedene Prozesse handelt...“, so glaubt F. Brieger „...dasz es sich... immer um eine in gleicher Weise, und zwar im vorliegenden Falle (bei *Oenothera lata)* sporophytisch bedingte Entwicklungsanomalie handelt“ [1]).

Da ich während meiner Untersuchungen über die Entwicklung des Pollens einige Einzelheiten angetroffen habe, die bisher wenig Beachtung gefunden und die gerade die „Zerstörung von Haplonten“ betreffen, so möchte ich an dieser Stelle mitteilen, was mir bei dem *Nicotiana*-Bastard zu beobachten gelang, sowie auch gewisse Tatsachen aus der Entwicklung der mit Äther behandelten Antheren bei *Larix* [2]).

In meiner Arbeit aus dem Jahre 1921 unter dem Titel „Développement des anthères et formation des grains de pollen chez l'hybride stérile de *Nicotiana atropurpurea* Hort. × *Nic. silvestris* Speg. et Comes“ unterschied ich eine ganze Reihe Störungen, von denen einige sehr früh, während der Entwicklung der Gonotokonten begannen, andere viel später — so, dasz sie wohl die Ausbildung der Pollenkerne, jedoch nur steriler, zulieszen. Ich bemerkte darüber in Punkt 10 meines Résumés, dasz „En général les cellules nourricières dégénèrent plus tôt que l'assise goniale, qui malgré sa désorganisation, peut encore se développer. Mais ce développement n'est pas normal en effet“ [3]). Dieser Schlusz spräche also für die Resultate der Forschungen Gates' aus dem Jahr 1907, wie auch von Gates und Thomas aus dem Jahre 1913, die, wie wir bereits wissen, die Degeneration der Tapetenschicht für eine ursprüngliche Erscheinung hielten.

Als ich jedoch „En générale“ sagte, betrachtete ich solche Fälle der Degeneration als öfters als andere sich abspielende, während die Typen anderer Störungen als viel seltenere, denn: „A l'état de synapsis, peut se manifester la karyolyse des noyaux: en effet apparaît alors la dégénérescence des gonotocontes ou archespores, malgré que l'assise nourricière demeure normale“ [4]).

In diesen Fällen hätten wir es also mit einer Erscheinung zu

---

[1]) L. c., p. 345.

[2]) Eine Diskussion der Frage über die Faktoren soll in dieser Arbeit allerdings nicht vorgenommen werden.

[3]) Z. Wóycicki, l. c., p. 57.

[4]) L. c., p. 56.

tun, die der von Tischler bei *Ribes Gordonianum* (1927) angetroffenen entspräche, jedoch mit dem prinzipiellen Unterschied, dasz der Zerstörungsprozesz der gonialen Schicht bei dem *Nicotiana*-Bastard nicht die für *Ribes* so eingentümliche Wucherung der Tapetenzellen und Erfüllung des Pollenfaches durch dieselben hervorruft. Solche Erfüllung kommt wohl, wie Brieger gezeigt hat [1]), auch bei *Nicotiana* vor, hat jedoch bei *Nicotiana atropurpurea* × *Nic. silvestris* einen anderen Charakter. Es degeneriert nämlich die goniale Schicht und nach ihr auch die Tapetenschicht, worauf „le tissu des mamelons de la cloison pénètre dans les sacs polliniques“ [2]); bei meiner F^1 Pflanze auszerdem „non seulement le tissu des mamelons pénètre dans les sacs polliniques, mais encore les parois des anthères prennent une part dominante à cet acte“ [3])...

Auszer auf die obengenannten Vorgänge, zu denen noch eine Reihe wichtiger Störungen während des Reductionsprozesses gerechnet werden müszten, machte ich auch bei dem Bastard *Nic. silvestris* × *Nic. atropurpurea* auf eine Erscheinung aufmerksam, welche obgenannte Autoren unbeachtet gelassen; möglicherweise hat Gates (1913) sie im Sinne gehabt, als er seine Figuren 32, 33 u. 34 angab und beschrieb. Es handelt sich hier um Prozesse der Zellzerstörung, die von mir unter dem Namen „Gonotokonten und Gonolyse“ [4]) beschrieben worden sind und die sich folgendermaszen abspielen: Der bisher deutliche glatte Rand der dicken, glasigen Mutterzellenhaut unterliegt einer körnigen Veränderung (Fig. 65 u. 69, Taf. VIII) und löst sich dann allmählich auf. Zu dieser Zeit weist auch der Protoplast Degenerationserscheinungen auf, was sich vor allem in der übermäszigen Vacuolisation des Randplasmas bemerkbar macht (Fig. 69, Taf. VIII) [5]). Das tieferliegende, die Dyadenkerne umgebende Plasma widersteht dem Zerstörungsprozesz, solange es das eigene vacuolisierte Plasma umhüllt. Im Laufe der Zeit jedoch unterliegt das tiefergelegene Plasma ebenfalls den degenerativen Vorgängen. Nachdem der Destruktionsprozesz in das Innere des Gonotokontenterritoriums fortgeschritten ist, nähern sich die Spindeln der Teilungsfiguren der

---

[1]) L. c., p. 344.

[2]) Wóycicki, L., l. c., p. 57.

[3]) L. c., p. 57.

[4]) L. c. p. 56.

[5]) Eine derartig starke vacuolige Degeneration der Gonotokonten erwähnten bereits Gates u. Thomas (1913). Sie meinen: „The cytoplasm becomes highly vacuolate and scanty, while the nucleus disappears, leaving only pale-staining scattered chromatin remnants“. L. c., p. 544.

Dyadenkerne einander (ein Moment, der übrigens aus den Arbeiten Strasburgers bekannt ist), es entsteht eine Verwirrung in den bisher regelmässig angeordneten Fäden und endlich eine körnige Degeneration der ganzen Spindel. Die Chromosomen verkleinern sich in diesen Fällen allmählich und zerstreuen sich in Gestalt winziger Körperchen auf dem schaumigen Gebiet des gewesenen Gonotokonten (Fig. 65 u. 69, Taf. VIII, 1921).

Eine etwas frühere Gonotokontolyse sehen wir auf der dem Text beigefügten Figur 1.

Die obige Figur stammt aus dem linken Antherenfach, dessen Durchschnitt auf Fig. 74, Taf. IX meiner Arbeit aus dem Jahre 1921 an-

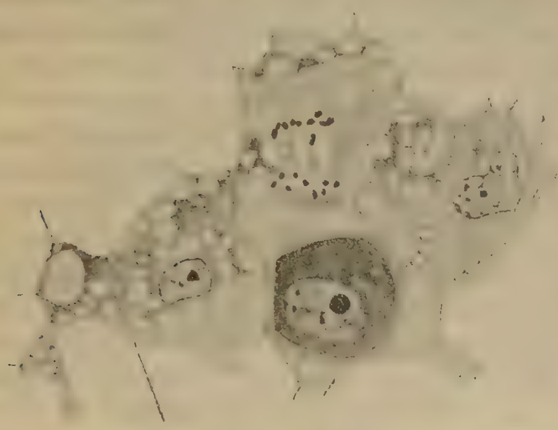


Fig. 1. Degenerierende Pollenmutterzellen im Moment der Interkinese und während der Teilung. Das Verschwinden der Mutterzellmembranen, sowie eine enorme Vacuolisation des, eine schaumige Masse bildenden Plasmas, ist ganz deutlich sichtbar. Homog. Immers. Reichert $^{1}/_{12}$ × Comp. Oc. Nr. 10. Vergrösserung ca 900 ×.

gegeben worden war. Im Bereich der in Zerstörung begriffenen gonialen Schicht liegen entweder die P. M. Z., umgeben von einer dicken, glasigen Wand, oder nur stark degenerierte, im plasmatischen Netz steckende Kerne der P. M. Zellen. Endlich haben wir hier auch die zerfallende Spindel der ersten Teilung (der Reduktionsteilung) und winzige, im schaumigen Plasma verstreute Chromosomen. Bei dem Barstard *Nic. silvestris* × *Nic. atropurpurea* tritt also die Desorganisation der Gonialschicht viel früher ein, als bei dem *Oenothera*-Bastard, bei welchem Oehlkers (1927) die Ursache der Tetradendegeneration, eventuell der Pollen, in einer krankhaften Tätigkeit der Tapetenschicht erblickt. „Bei beiden Formen" — betont wiederholt genannter Autor — „haben wir es... mit einer somatisch induzierten Pollensterilität zu tun, die

offenbar von einer Fehlsekretion des Tapetums ihren Ausgang nimmt...“ [1]). Diese Sekretion, welche nach Fixierug in Gestalt einer glasigen, streifenartigen Masse auftritt (Fig. 64, Taf. VIII, d. J. 1921), oder auch in Gestalt körnig — schaumiger Substanz (Fig. 74, Taf. IX d. J. 1921), läszt sich überall in den Antherenfächern bei dem Bastard *Nic. silv.* × *Nic. atropurpurea* beobachten.

Bei genanntem Bastard haben wir es in den soeben beschriebenen Fällen mit noch einer Kategorie von Erscheinungen zu tun, denen, wie mir scheint, ebenfalls Oehlkers (1927), wie auch Gates (1919) begegnet sein dürften, wenn sie auch nicht direkt davon sprechen.

In meiner Arbeit aus d. J. 1921 machte ich darauf aufmerksam, dasz „les cellules nourricières chez les *Nicotiana* ne forment pas le periplasmodium. Elles restent comme une assise d'éléments couverts de membranes, jusqu'au moment où, la soudure de stomium se rompt“ [2]). Das fand auch volle Bestätigung in der Arbeit M. Mascré's aus demselben Jahre (1921), der zur Überzeugung kam, dass: „...le tapis staminal des *Solanacées* est un tapis du type secreteur“ [3]). Bei der *Nicotiana*gattung beruht also die normale Funktion der Tapetenschicht nur auf der Sekretionstätigkeit, wogegen bei dem Bastard *Nic. silvestris* × *Nic. atropurpurea* „...dans la paroi tapétale disparaissent çà et là les membranes des cellules, apparaît alors le pseudoperiplasmodium, qui pénètre dans le terrain des sacs polliniques“ [4]). In solchen Fällen füllt sich das Pollenfach einerseits mit dem groszmaschigen Netz, das eine Art Gerüst aus glasiger sich einheitlich färbender Substanz bildet, anderseits mit einem subtilen plasmodialen Netzchen, das sich zu einem Ganzen mit jenem Netzchen verbindet, welches aus den desorganisierten, also den der Cytolyse unterliegenden Gonotokonten, eventuell Gonen, entsteht [5]). Was das Netz der ersten Art betrifft, so wissen wir auf Grund der Forschungen Juel's (1915) über den Charakter der Substanzen, aus denen sie bestehen, dasz sie „nach ihrem Verhalten gegen Färbemittel zu schlieszen, sind... nicht plasmatischer Natur, sondern eher mit den Zellwandstoffen verwandt“ [6]). Dorsey (1914) behauptet, dasz die Stärke der Färbung dieser Substanz von den Pektinverbindungen

---

[1]) Oehlkers, F. L. c., p. 281.
[2]) Wóycicki, Z. L. c., p. 57.
[3]) Mascré, M. L. c. p. 88.
[4]) Wóycicki, L. L. c., p. 57.
[5]) Das wäre also ein Netzchen solcher Art, wie sie Gates in seiner Zeichnung 32 aus dem Jhr. 1913 anführt.
[6]) Juel, H. O., L. c., p. 361. Siehe auch Bowers, Cl. (1930).

abhängig ist, welche sich in den Pollenmutterzellen befinden. Was ihre Herkunft betrifft, so meint Juel: „Zum Teil dürften solche Substanzen aus den aufgelösten Zellwandkomplexen der Tetraden stammen... jedoch... musz auch eine Sekretion aus der Tapetenschicht angenommen werden“ [1]). Derselben Ansicht über die Tapetenzellen ist Tischler (1915). Obenerwähnte Sekretion ist noch viel deutlicher auf Textfig. 2, wo wir eine Reihe von Tapetenzellen sehen, die die Warze der Scheidewand der Antherenfächer des Bastard *Nic. silvestris* × *Nic. atropurpurea* bedecken. In der — unter Einwir-



Fig. 2. Die Schicht der Zellen, welche die Warze der Zellscheidewand des Pollenfaches bedecken. Das Plasma der Tapetenzelle bildet Vorsprünge in das Innere des mit dem Sekret angefüllten Pollenfaches und umgibt die Tetraden. Immers. Reichert $^{1}/_{12}$ × Oc. Nr. 3. Vergröszerung ca 700 ×.

kung der Fixierungsmittel körnigen Substanz, welche das Pollenfach der Anthere ausfüllt, ruhen die Tetraden [2]), die Tapetenzellen haben die Membranen auf ihrem Gipfel und teilweise auch an der Seite eingebüszt; ihr plasmatischer, schaumiger, stark vakuolisierter Inhalt bildet in der Richtung der netz- oder wabenförmig strukturierten Substanz Vorsprünge und beginnt die Tetraden zu umgeben (wie z. B. auf der rechten Seite der Fig. 2). Die Kerne der Tapetenzellen weisen vorwiegend sämtliche Merkmale der typischen Karyolyse auf;

[1]) Juel, H. O. L. c., p. 362.
[2]) Wie bei *Oen. lata* von Oehlkers (1927).

hie und da nur behielten sie ihre frühere, typische Struktur bei. Von einem ähnlichen Verhalten der Tapetenzellen spricht auch Mascré, indem er genannte Erscheinung „dégénéréscence pathologique du tapis“ nennt.

Bei dem von Mascré untersuchten *Solanum*, bei *Capsicum*, *Lycopersicum* und *Nicotiana* lösen sich die Zellwände der Tapetenzellen ganz auf (es bildet sich ein Syncytium), ich konnte jedoch bei dem *Nicotiana*-Bastard das Verschwinden der Membranen hauptsächlich nur an den Gipfeln beobachten. Was die Kerne betrifft, so verhalten sich diese fast identisch, denn, wie Mascré sagt, „le noyau entier se colore uniformément par l'hematoxyline; son volume diminue, la masse nucléaire semble se dissoudre. Lorsque les noyaux ont disparu, on observe dans la masse syncytiale de très volumineuses inclusions massives, souvent extrêmement allongées, qui se colorent très fortement par les colorants nucléaires“ [1]). Die angeführte Beschreibung entspricht ganz den in meiner Figur 67 aus dem Jahre 1921 dargestellten Verhältnissen.

Aus obigem läszt sich daher schliessen, dasz, sofern in den Tapetenzellen die Kerne mehr oder weniger den krankhaften Desorganisationsprozessen unterliegen, d. i., falls also die normale Wechselwirkung zwischen Plasma und Kern zerstört wird, das Plasma nicht nur, wie dies Oehlkers ganz richtig hervorhebt, Fehlsekretion produziert, sondern es rückt ohne jedes Hindernis von Seite der fehlenden Wände in die Fächer ein, bildet dort ein Periplasmodium, welches die Gonotokonten (eventuell Gonen) angreift und sie zerstört. Und mehr noch — wofür gewisse Bilder, wie z. B. Fig. 65, Taf. VIII a. d. Jhr. 1921, deutlich dafür sprechen, dasz der befreite Gonotokonto — ev. Gonoprotoplast nunmehr ein tätiger Bestandteil des Plasmodiums wird, worauf schon Miss Caldwell [2]) — wenn auch nur flüchtig — im Jhr. 1899 aufmerksam machte.

Doch um vieles deutlicher noch tritt diese krankhafte Aktivität der Tapetenschicht unter gewissen Bedingungen bei *Larix* auf, die angeblich zu den Vertretern gehört, welche nach derMeinung Juel's „keine Periplasmodien bilden“ [3]). In der Tat lassen sich, übereinstimmend mit

[1]) Marcré, M. L. c., p. 39—40.

[2]) Otis W. Caldwell, l. c., p. 51. Siehe auch die Arbeiten von Rosenberg (1901) über *Zostera*, von Campbell (1897) über *Zanichellia* und *Lilea subulata* (1891).

[3]) Juel, H. O., l. c., p. 339. Eigentlich drückt sich der Autor an anderer Stelle noch kategorischer aus. Auf Seite 338 sagt er nämlich: „Bei den Gymnospermen sind sie (Periplasmodien) in keinem Falle nachgewiesen worden“.

den Beobachtungen Juel's, mit Leichtigkeit bei *Larix dahurica* Antheren feststellen, in denen die Vorgänge sich uns so darstellen, wie dies aus beigefügter Fig. 3 zu ersehen ist.

Wir haben hier die Ränder von zwei benachbarten Antheren mit Pollenkörnern, welche die Reste der Prothaliumzellen, die spermatogene Zelle und die Pollenschlauchzelle enthalten. Trotz des so späten Entwicklungsmomentes haben sich die Tapetenzellen ganz gut erhalten, nur hie und da kurze Warzen bildend, die zwischen die Pollenkörner hineindringen.



Fig. 3. Querschnitt durch die Anthere von *Larix dahurica*. Die Tapetenschicht ist an ihrer Stelle geblieben und hat keine Periplasmodien gebildet. Zeiss Apochr. 4 *mm* × Projekt. Okul. Nr. 4. Entfernung des Klischées = 25 *cm*. 250 ×.

Die Untersuchungen Frau Luxenburg's (1921) haben aber erwiesen, dasz sich sowohl bei *Larix dahurica*, wie auch bei *L. sibirica* und *L. europaea* Periplasmodien bilden. „In der Tapetenschicht" sagt die Autorin, „verschwinden die Wände... es folgt ein völliges Verschmelzen der Protoplasten; Plasma mit den Kernen, die keine Desorganisationsanzeichen aufweisen, dringt in das Innere der Anthere" [1]). Viel schöner, denn viel stärker, entfaltet sich ein Periplasmodium in den ätherisierten Antheren. Da ich schon im Jahre 1906 Angaben über die Art und Weise der Ätherisierung [2]), wie auch über die von mir

---

[1]) Luxemburg, A. l. c., p. 21.
[2]) Wóycicki, Z. l. c., p. 527—533.

angewandten Methoden zur Fixierung und Färbung [1]) machte, so unterlasse ich hier deren Wiederholung. An Präparaten, während 3 Tage mit Äther behandelt und nach Ablauf von 3 Tagen fixiert, sieht man in einigen Antheren ausgezeichnet entwickeltes Periplasmodium in Gestalt einer schaumigen Masse mit zahlreichen Kernen (Fig. 1 u. 2, Taf. I).

Die Kerne des genannten Plasmodiums sind nicht alle von gleicher Grösze. Einige von ihnen sind klein, andere grosz (wie aus Fig. 2 Taf. I zu ersehen ist) und diese stammen aus der Kopulation zweier Kerne, worauf auch schon Frau Luxenburg aufmerksam machte. Einige der Gonotokonten umgibt eine dicke glasige Wand, andere entbehren derselben, und gerade an diesen läszt sich ganz deutlich der Beginn der Cytolyse feststellen. Auf Fig. 1, Taf. I. haben wir zum Beispiel genau in ihrer Mitte eine Pollenmutterzelle mit einem unregelmäszigen Rand, zerrissen durch die periplasmodialen Ströme, die von verschiedenen Seiten gegen diesen Gonotokonten gerichtet sind. Die plasmodialen Fäden [Fig. 1 links] verbinden sich so eng mit dem Cytoplasma der Pollenmutterzelle, dasz sich die eigentliche Grenze derselben schwer bestimmen läszt. Auf Fig. 3 u. 4, Taf. I, haben wir einen Querschnitt aus einer der benachbarten Antheren desselben Mikrotomschnittes. Den ganzen mittleren Teil des Antherenfaches füllen zwei mächtige Plasmodialmassen aus, die nur einen schmalen Mittelraum freilassen, der den äuszeren Teil des Lumens des Pollensackes mit seinem inneren verbindet. Den äuszeren Rand des Loculus sieht man auf Fig. 4, welche ich darum anführe, weil hier vorzüglich der subtile Charakter des plasmodialen Netzes hervortritt, welches die Pollenmutterzelle und die aus ihr entstandenen Dyaden angreift.

Ebenso riesige plasmatische Komplexe, wie in Fig. 3, sehen wir auch auf Fig. 5, Tafel I, wo der Einflusz des Äthers auf die Gonialschicht sicht darin äuszerte, dasz der Synchronismus der Teilungen nicht mehr aufgetreten ist; einige der Gonotokonten sind in ihrer weiteren Entwicklung zurückgehalten worden, andere passieren durch die Dyaden und bilden Tetraden. Das syncytiale Netz hat nicht überall gleiche Struktur; es ist längs der Antherenwand bedeutend stärker vacuolisiert als am Rande, wo die beiden plasmatischen Massen zusammentreffen (Fig. 3). Der Charakter des Plasmodiums, welches die Pollenmutterzellen oder von ihnen abstammende Elemente angreift, tritt noch deutlicher auf Fig. 7, 8 u. 9 hervor. Die

[1]) L. Wóycicki, l. c., p. 529—530.

Aufnahmen 7 u. 8 entstammen zwei aufeinander folgenden Mikrotomschnitten, Photo 9 dagegen wurde einem anderen Präparat entnommen. Die Mitte von Fig. 7 u. 8 wird von einem Syncytialnest, von mehr oder weniger deutlichen Umrissen, eingenommen. Von den Rändern dieses Nestes aus erstreckt sich nach allen Richtungen hin ein sehr feines plasmatisches Netzchen, welches einige Dyaden ev. Tetraden mit sehr deutlich ausgefransten Rändern umfaszt. Auf Fig. 7 in der Dyade A läszt sich eine solche Kernkopulation feststellen, wie sie Němec im Jhr. 1910 unter dem Einflusz von Chloroform beobachtet hatte. Um vieles deutlicher jedoch ist eine solche Kopulation auf Photo 10 sichtbar. Das Plasmodialnest der Figuren 7 u. 8 ist der Kerne ganz beraubt: es lassen sich weder Reste noch Spuren derselben nachweisen; es gibt auch keine Kerne auszerhalb desselben, im Gebiet des Netzes, in welchem die der Cytolyse erliegenden Archesporzellen stecken. Ein ebensolches Verhalten der Dyaden oder sogar Tetraden können wir auch auf Photo 9 sehen, wo sich von der rechten Seite her, keilförmig zwischen die Gonialzellen, der Rand des Plasmodialnestes hineindrängt. Der Inhalt der kopulierenden Kerne hat den Charakter ungleichmäsziger Netze, in denen die Nucleolen ruhen.

Im Material Němec's veränderten, unter dem Einflusz des Chloroforms (l. c., p. 177—223), sowohl die Kerne wie auch das Plasma der kopulierenden Dyaden bedeutend ihre Struktur. Auf Fig. 66 b, Taf. III Němec's sieht man z. B. zwei kopulierende Kerne von einer besonderen, hellen plasmatischen Zone umgeben. „Es ist“ sagt Němec, „. . . filar oder fein granuliert, an seiner Oberfläche liegen die Leukoplasten“ [1]). In meinem Material ist diese Abgrenzung entweder überhaupt nicht vorhanden oder fast nicht zu unterscheiden; das ganze Cytoplasma hat eine filare Struktur und umgibt dicht beide Kopulationskerne. Die mit Äther behandelten Staubfäden von *Larix* liefern uns aber ein Beispiel für ein noch anderes Verhalten der Tapetenzellen. In dem Material, in welchem sich in den Loculi schon Plasmodium ausgebildet hat, lassen sich ziemlich oft Antheren mit Tapetenzellen antreffen, die derartig wuchern, wie es sich bei *Knautia* oder *Doronicum* abzuspielen pflegt [2]). Teilweise hängt unzweifelhaft gerade solch ein Verhalten der Tapetenzellen von der Lage der Anthere in den ätherisierten Blüten ab. In derartigen membranlosen wuchernden Tapetenprotoplasten bildet das Plasma einen delikaten Primordial-

1) B. Němec, l. c., p. 202.
2) H. O. Juel, 1915.

schlauch, der die riesige centrale Vacuole umhüllt (Fig. 12, Taf. II [1]). Im Plasma des vorderen Zellteiles ruhen ein oder zwei stark deformierte Kerne. Unter den Elementen, die durch die wuchernden Tapetenzellen zusammengedrängt sind, lassen sich sowohl Pollenmutterzellen, Dyaden sowie Tetraden antreffen. Fast alle diese Elemente haben stark verdickte Membranen.

Eine gut erhaltene territoriale Abgrenzung der Bestandselemente des Syncytiums sehen wir auf Fig. 11. Die Tapetenzellen wuchern jedoch nicht so stark wie im vorigen Falle; ihre Kerne sind bedeutend deutlicher, das Plasma etwas üppiger, ihre Grenze jedoch bilden, wie auf Photo 12, nur die Primordialschläuche [2]).

Bei dieser Gelegenheit hätte ich hier gern noch auf zwei Fragen aufmerksam gemacht. Eine von ihnen betrifft *Larix*, die zweite den Bastard *Nic. silvestris* × *Nic. atropurpurea*.

Auf einer der Figuren meiner Arbeit vom Jhr. 1906, nämlich auf Fig. 31, wurde dargestellt „Reifes Pollenkorn mit zwei ruhenden Zellen des Prothalliums: einer antheridialen und einer embryonalen Zelle“ [3]). Dieser Pollen entstammt einem Material, zu dessen Ätherisierung während 48 Stunden die um die Hälfte verringerte Äthermenge verwendet wurde [4]). Wie ich damals festgestellt hatte, „ergibt sich“, nach solcher Behandlung, „zunächst eine längere Dauer der Untätigkeit der ätherisierten Gonen“ [5]). Auszerdem, wenn in den Zellen Teilungen eintreten, so — „treten sie nur vereinzelt auf...“ und unterbrechen sich bald, denn „...bereits am folgenden Tage kann keine Teilung mehr nachgewiesen werden... bis schliesslich in den meisten Fällen eine völlige Desorganisation der Zellen eintritt, nachdem diese kaum Zeit gehabt haben... eine der Zellen des Vorkeimes zu bilden“ [6]).

Auf Photo 4 dieses Textes ist gerade zu sehen, dasz das Verhalten eines derartig desorganisierenden Pollens sehr eigentümlich ist. Alle Gonen ohne Ausnahme in diesem Pollenfach (ob sie bereits begonnen haben die Prothalliumzellen zu bilden oder nicht) fangen an, sich ge-

[1]) Derartige membranlose Zellen nennt Küster (1927) „Dermatoplasten“.

[2]) Eine solche Wucherung der Tapetenzellen beobachtete, wie man nach den Zeichnungen urteilen kann (Photo 9, p. 118), auch Emma Stein (1929) in den Fällen der Radiomorphosen bei *Antirrhinum*.

[3]) Z. Wóycicki, l. c, p. 553.

[4]) — l. c., p. 545.

[5]) — l. c., p. 545.

[6]) — l. c., p. 545.

waltig zu umhüllen. Mit anderen Worten, das Gonoplasma bildet immer neue Membranschichten, die das Gebiet des Protoplasten endlich auf ein Minimum einschränken. Die Kerne solcher Gonen sind ebenfalls zusammengeschrumpft und einige von ihnen weisen Karyorexis auf.

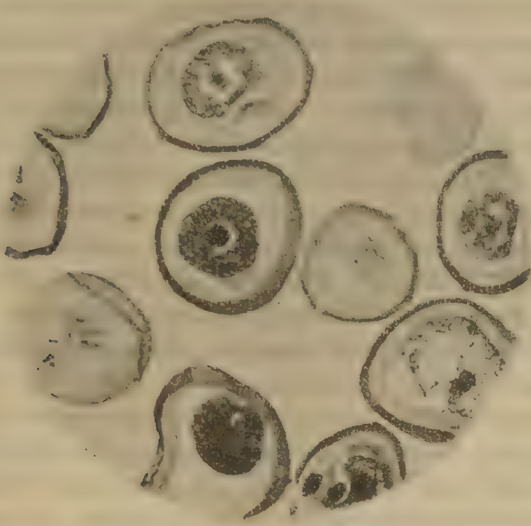


Fig. 4. Pollenzellen von *Larix dahurica* nach 48-stündiger Ätherbehandlung. Apochr. Zeiss. 4 *mm* × Proj. Ok. Nr. 4. 278 ×.

* * *

Die zweite Frage berührt ein ganz anderes Thema. Als M. Mascré (1921) eine eingehende Beschreibung der „région sutural“ bei *Nicotiana* angab, stellte er vor allem fest: „Elle est identique chez les trois espèces étudiées“ [1]), was jedoch nicht ganz mit dem übereinstimmt, was er weiter auf Seite 51 schreibt, denn da lesen wir: „Chez *Nic. Tabacum*, il y a généralement division des cellules sousépidermiques, chez *Nic. rustica* et chez *Nic. gigantea*, au contraire, leur cloisonnement est relativemet rare: il y a presque toujours simple allongement; cette différence entre les espèces n'est pas absolue“ [2]).

Auf Grund des seiner Zeit von Kollege Malinowski erhaltenen Materials überzeugte ich mich, dasz die „région suturale“ bei

[1]) M. Mascré, l. c., p. 49.
[2]) — l. c., p. 51.

Nic. silvestris den gleichen Charakter hat wie bei *Nic. gigantea* (Fig. 94 u. 95, Taf. XI aus d. Jhr. 1921), dasz sie dagegen bei *Nic. atropurpurea* ihrer Gestalt nach an die Verhältnisse erinnert, die nach Mascré bei *Nic. Tabacum* herrschen. Meine Beobachtungen sprächen dafür, dasz die erwähnten Verhältnisse beständig sind, weshalb ich, das Verhalten der „région suturale" bei dem Bastard *Nic. atropurpurea* formulierend, sagte: „Dans la partie stomiale il faut distinguer le crampon spécial, qui unit les cellules stomiales des deux sacs polliniques. Chez les *Nic. silvestris* ce crampon se compose de quatre ou cinq cellules, qui différent des cellules stomiales. Chez les *Nic. atropurpurea* ce crampon se compose aussi de quatre ou cinq cellules interstomiales. Celles-ci se divisent de cette manière, qu'elles forment enfin trois assises de cellules cramponiales. Chez la bâtarde des *Nicotiana*, ce crampon est construit de la même manière que celui des *Nic. atropurpurea*" [1]). Mit anderen Worten, stellt die Struktur der „région suturale", nach dem *Nic. atropurpurea* — Typus zu urteilen, eine dominierende Eigenschaft dar, welche der Bastard in seiner ersten Generation ganz deutlich erkennen läszt.

Zum Schlusz endlich ein paar Worte über die Erscheinungen, welche sich in der Zone der „région suturale", in den Antheren bei verschiedenen Vertretern der *Nicotiana* abspielen. Meiner Beschreibung nach, unterliegt das Nahtparenchym bei *Nic. atropurpurea* einer allmählichen Obliteration, die sich vor allem durch die Auflösung der Zellmembranen auszeichnet; in den von Mascré untersuchten Objekten sogar nach der Entstehung von „... une plage oxalifère... on distingue encore les débris des parois cellulaires" [2]). In meinem Material verlieren die Kerne während des Membranschwundes ihren Turgor, verändern ihre Umrisse, schlagen das Karyotin mit dem Kernkörperchen zusammen und am Ende nimmt all das ein glasiges Aussehen an; bei Mascré dagegen schrumpft der Kern und wird chromatinarm. Die schwache Färbung entspricht wahrscheinlich dem Moment, in welchem die glasige Degeneration eintritt.

Zusammenfassung.

1) Bei dem Bastard *Nic. silvestris* × *Nic. atropurpurea* haben wir es während der Antherenentwicklung mit sehr verschiedenartigen Hemmungserscheinungen zu tun. Auszer Störungen während des Reduktionsprozesses treten hier noch auf: *a)* die Degeneration

---

[1]) Wóycicki, l. c., p. 57.

[2]) Mascré M., l. c., p. 51.

der Tapetenschicht, die der Zerstörung der Gonialschicht vorangeht — also ein Vorgang, welcher den von Gates angegebenen Tatsachen gleichzustellen wäre; *b)* die Degeneration der Gonialschicht, die der Zerstörung der Tapetenschicht vorangeht — also ein Fall, der ganz den Erscheinungen entspricht, die uns aus den Arbeiten Pohl's, Oehlkers und Tischlers bekannt sind.

2) Die der Degeneration unterliegende Tapetenschicht bildet bei dem *Nicotiana*-Bastard ein Syncytium, welches, da es der normalen Relation zwischen Kernen und Plasma entbehrt, die goniale Schicht angreift, die Membranen der Zellen auflöst und die Energiden in seinem Innern aufnimmt. Sowohl ältere wie auch neuere, über den *Nicotiana*-Bastard gemachten Beobachtungen sprechen dafür, dasz das Plasma der zerstörten Zellen zum aktiven Bestandteil des angreifenden Plasmodiums wird.

3) An dem Hineinragen und Erfüllen des Loculuslumens der Anthere des *Nicotiana*-Bastards nimmt die Tapetenschicht niemals teil. Das geschieht ausnahmsweise auf Kosten der Zellen, aus denen die Warze der Scheidewand gebaut ist.

4) Die anormale „Aktivität" des Plasmodiums kann durch Atherisierung hervorgerufen werden *(Larix)*.

5) Das ätherisierte Plasmodium zerstört die Gonotokonten und Gonen, nimmt sie dann in sich auf und erfüllt bei *Larix* nach und nach das ganze Antherenfach. In den ätherisierten Dyadenzellen kopulieren die Kerne sehr oft, was — in Übereinstimmung mit den Resultaten Němec's (1910) — eher der Ätherisierung, als dem Einflusz des angreifenden Plasmodiums zuzuschreiben wäre.

6) Manchmal erliegen die wandlosen Tapetenzellen einer derartigen Hypertrophie, wie sie Juel (1915) bei *Cucurbitaceae* beschrieben hat. Es bildet sich dann ein Synprotoplast, der das Pollenfach der Anthere erfüllt.

Institut für Allgemeine Botanik der Universität Warschau.

Literatur-Verzeichnis.

Bonnet, Jean. 1911. Arch. f. Zellforsch., Bd. 7.
Bowers, Cl. 1930. Bull. Tor. Bot. Cl., v. 57.
Brieger, F. 1928. Planta. Bd. 6, H. 2.
Caldwell, Otis W. 1899. Bot. Gaz., v. 27.
Campbell, D. H. 1900 Ann. of. Botany, v. 14.
Clausen, Peter 1927. Dissert. Kiel.
Dorsey, M. J. 1914. Univ. Minnesota Agr. Exp. Stat. Bull. 144.
East, E. M. 1928. Bibl. Genetica, D. IV.

Gates, R. Rugles. 1907. Bot. Gazette, v. 43, Nr. 2.
— 1913. Quart. Journ. of Micr. Sc., v. 59.
Goodspeed, T. H. and Clausen, R. L. 1927. Univ. of. California Publ. in Botany v. II.
Juel, H. O. 1915. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 56.
Kosmath, L. 1927 Oestr. bot. Zeitschrf., Bd. 76.
Kostoff, D. 1929. Zeitschrift f. Zellforsch. u. Mikr. Anat., Bd. 9.
Küster, E. 1927. Protoplasma, Bd. III, H. 2.
Luxenburg, Anna. 1923. Disc. Biol. Arch. Soc. Scient. Varsaviensis, v. I. fasc. 16.
Mascré, M. 1991. Thèse. Paris.
— 1925. Comp. Rend. Acad. Sc. Paris, t. 181, Nr. 26.
Němec, B. 1910: Das Problem der Befruchtungsvorgänge.
Oehlkers, Fr. 1927. Zeitschrf. f. ind. Abstam. u. Vererbungslehre, Bd. 43.
Oes, A. 1908. Bot. Zeitg., Bd. 66, H. 5/6.
Pohl, J. 1895. Oestr. Bot. Zeitschr., Bd. 45.
Rosenberg, O. 1901. Über die Pollenbildung von Zostera, Upsala.
Ruttle, M. L. 1928. Univ. of California Public. in Bot., v. 2.
Schnarf, K. 1929. Handb. d. Pflanzenanat. Berlin.
Stein, Emma. 1929. Biol. Centrbl., Bd. 49.
Strasburger, E. 1882: Über den Bau und das Wachstum der Zellhäute. Jena.
— 1889: Über das Wachstum vegetabilischer Zellhäute. Hist. Beiträge II. Jena.
Tischler, G. 1906. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 42, H. 4.
— 1908. Arch. f. Zellforsch., Bd. 1, H. 1.
— 1915. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 15.
— 1927. Planta, Bd. 4, H. 5.
Wóycicki, Z. 1906. Bull. de l'Ac. des Sc. de Cracovie.
— 1921. Disc. Biol. Arch. Soc. Scient. Varsav, V. I.

Beschreibung der Tafeln.

Die Antheren bei *Larix dahurica*.

Tafel I.

Photo 1 u. 2. Gewaltige Syncytiumbildung aus den Tapetenzellen während der Entwicklung der Pollenmutterzelle. Das Plasmodium enthält eine riesige Anzahl gut ausgebildeter Kerne. Einige von ihnen stellen das Produkt der Kopulation mehrerer Kerne dar. Auf Photo 1 sieht man auszerdem eine Pollenmutterzelle umflochten von einem feinen plasmodialen Netzchen. Apochr. Zeiss. 4 *mm* × Proj. Ok. Nr. 4. × 250.

Photo 3. Querschnitt durch die Anthere. Periplasmodium in Gestalt von zwei groszen plasmatichen Massen. Ihr Plasma stark vacuolisiert; Kerne zahlreich, undeutlich. Apochr. Zeiss. 8 *mm* × Proj. Ok. Nr. 4. × 250.

Photo 4. Rand des Antherenfaches Fig. 3 in der Nähe der nach auszen gelegenen sich teilenden Gonotokonten. Man sicht hier Gonotokonten u. Gonen teils mit, teils ohne Wände. Das Plasmodium bildet hier ein feines Netzchen. welches die Pollenmutterzelle oder ihre Tochterzellen umhüllt. Apochr. Zeiss 4 *mm* × Proj. Ok. Nr. 4. × 400.

Photo 5. Loculus, angefüllt mit einigen Syncytien, in denen Gonotokonten u. Gonen stecken. In den zweikernigen Gonotokonten läszt sich die Annäherung

der Kerne zu einander, eventuell ihre Kopulation beobachten. Apochr. Zeiss 8 *mm* × Proj. Ok. Nr. 4. × 200.

Photo 6. Ein plasmodiales Inselchen in der Tiefe des Antherenfaches. Es enthält im Innern einen riesigen Kern des schon verzehrten Gonotokonten. Neben ihm ruht eine vom Plasmodium angegriffene Pollenmutterzelle. Apochr. Zeiss 4 *mm* × Proj. Ok. Nr. 4. × 700.

Tafel II.

Photo 7 u. 8. Zwei aufeinander folgende Schnitte auf denen deutlich der Charakter des Plasmodiums, das die Gonotokonten u. Gonen angreift, hervortritt. Apochr. Zeiss 4 *mm* × Proj. Ok. Nr. 4. × 300.

Photo 9. Innere des Antherenfaches, angefüllt mit einem feinen netzartigen Plasmodium, das die Gonotokonten u. Gonen vernichtet. Der plasmodiale Hauptherd ruht auf der rechten Seite des Loculus; er enthält zahlreiche degenerierende Kerne. Apochr. Zeiss 4 *mm* × Proj. Ok. Nr. 4. × 220.

Photo 10. Dyade während der Kernkopulation. Auszerdem einige degenerierende Dyaden u. Tetraden. Apochr. Zeiss 4 *mm* × Proj. Ok. Nr. 4. × 400.

Photo 11. Querschnitt durch die Anthere. In der Tiefe des Antherenfaches zusammengepreszte Gonen und Gonotokonten. Ein syncytialer Ring, in dem man die Grenzen vereinzelter zweikerniger Zellen (Dermatoplasten) unterscheiden kann, umgibt sie. Apochr. Zeiss. 8 *mm* × Proj. Ok. Nr. 4. × 200.

Photo 12. Syncytium, in dem man die Grenze riesiger Dermatoplasten sieht. Die Gipfel der Protoplasten enthalten kolossale Vacuolen. An den Rändern des Loculus, zwischen den Tapetenzellen, überwiegen Pollenmutterzellen, im Innern dagegen Gonen. Apochr. Zeiss 8 *mm* × Komp. Ok. Nr. 6. × 187.

Badania cytologiczne nad burakiem cukrowym *(Beta vulgaris* L. v. *saccharifera).*

(Cytological studies in the sugarbeet).

Napisała

CZESŁAWA PRYWER.

Cytologja buraka cukrowego *(Beta vulgaris* L.*)* była dotąd przedmiotem nielicznych badań. Oprócz pracy Matthysen'a z 1912 roku, w której autor błędnie określił liczbę chromosomów = 8, znajdujemy dane, dotyczące cytologji tej rośliny u Winge'go (1917) Autor ten znalazł u rodzaju *Beta* 9 chromosomów. Dokładniejsze badania embrjologiczno-cytologiczne są tematem pracy van Heel'a (1925). Karjokineza wegetatywna zaś została po raz pierwszy zbadana przez Kuzminę (1927), która zajęła się morfologją chromosomów u kilku odmian gatunku *Beta vulgaris.* Na zasadzie badań tej autorki, oraz van Heel'a potwierdzoną została ustalona przez Winge'go liczba chromosomów = 9 parom. Należy zaznaczyć, że zarówno van Heel, jak i Kuzmina opisują przebieg podziału redukcyjnego w komórkach macierzystych pyłku, jako całkowicie normalny. Kuzmina zwróciła tylko uwagę na szczegół, że w metafazie heterotypowej jedna para chromosomów układa się niekiedy wpoprzek wrzeciona.

Badania moje dotyczą cytologji buraka cukrowego (*Beta vulgaris v. saccharifera).* W przebiegu podziałów somatycznych uwzględniłam morfologję chromosomów, nadto prześledziłam przebieg podziałów allotypowych w komórkach macierzystych pyłku w obrębie szeregu linji.

Badania ilości, wielkości oraz kształtu chromosomów dają możność ustalenia określonego typu kompleksu chromosomalnego, oraz poznania różnic u poszczególnych gatunków w obrębie rodzaju. Precyzyjne badania nad morfologją chromosomów u różnych ras w obrębie jednego gatunku doprowadzają do poznania tych różnic

i według M. Navashin'a i Babcock'a (1930) wyjaśniają proces ewolucji, odbywający się w obrębie gatunku. Gatunek w biegu ewolucji może ulegać daleko idącemu różnicowaniu, naskutek czego dwie rasy na jego krańcach stojące mogą się stać tak dalekiemi pod względem pokrewieństwa, że możnaby je było wyodrębnić jako oddzielne gatunki. Prześledzenie morfologji chromosomów obok innych badań daje nam możność stwierdzenia tego u pewnych roślin, np. dla rodzaju *Crepis* — objektu badań Navashin'a i Babcock'a.

Pierwszym badaczem w dziedzinie morfologji chromosomów jest S. Nawaschin. W pracach swych nad *Fritillaria tenella* i *Galtonia candicans* (1912) zwraca on uwagę na przewężenie chromosomów, występujące jako charakterystyczny szczegół budowy. Stwierdza on, że przewężenie jest związane z punktem przyczepu chromosomów do nici wrzeciona i przyczynia się do nadania charakterystycznego kształtu chromosomom.

Japoński badacz Sakamura w pracy swej z 1915 roku stwierdza również istnienie przewężeń u określonych chromosomów u *Vicia Faba,* zarówno w karjokinezie wegetatywnej jak i generatywnej. Para wielkich chromosomów posiada dwa charakterystyczne przewężenia. Jedno z nich określone przez autora jako *m* — (mediane Einschnürung) umieszczone jest w środku i odpowiada punktowi przyczepu chromosomu do włókien wrzeciona („kinetische Querspalte" Delaunay'a), drugie (*e* — Endeinschnürung) jest umieszczone bliżej końca. Dla określenia tego przewężenia używa Delaunay terminu „akinetische Querspalte", Darlington, Belling i de Mol zaś „secondary constriction".

Na podstawie studjów własnych oraz obserwacji innych badaczów dochodzi Sakamura do wniosku, że przewężenia są szczegółem dającym się często skonstatować w chromosomach roślin i zwierząt, wobec czego można je uważać jako wskaźnik do rozpoznania danych chromosomów w garniturze somatycznym.

W obszernych badaniach nad rodzajem *Crepis*, przeprowadzonych przez szereg badaczów od 1914 roku, a zsyntetyzowanych w pracy „The Genus *Crepis*" B. Babcock i M. Navashin (1930) stwierdzają, że różnice w kształcie chromosomów u rodzaju *Crepis* pozwalają rozpoznać indywidualne chromosomy u różnych gatunków nawet w przypadku, jeżeli nie różnią się one wielkością. Charakterystyczne kształty chromosomów związane są według tych autorów z miejscem przewężenia i obecnością trabantów.

Na podstawie wyżej przytoczonych badań nad morfologją chromosomów zostało stwierdzone (Delaunay 1929), (Lewitzky 1930),

że u większości roślin garnitur chromosomalny jestto zespół złożony z pewnej określonej dla danego gatunku liczby chromosomów, w którym każdy chromosom może mieć swój charakterystyczny kształt. Kształt chromosomów jest uzależniony po pierwsze od przyczepu włókien wrzeciona w określonem miejscu chromosomu, który w tym punkcie mniej lub bardziej widocznie się przewęża. Przewężenie to dzieli chromosom na dwa ramiona równe, lub też niejednakowej długości. W przypadkach występowania przewężenia subterminalnego, gdy nić wrzeciona jest przyczepiona w pobliżu końca chromosomu, otrzymujemy chromosom pałeczkowaty, zakończony drugiem bardzo małem ramieniem t. zw. główką. Drugim szczegółem charakterystycznym dla pewnych chromosomów jest istnienie drugiego przewężenia t. zw. dodatkowego (secondary constriction), które nic wspólnego z poprzednio omawianem nie ma. Trzecim szczegółem określającym postać pewnych chromosomów, jest istnienie trabantów, występujących w pewnych przypadkach jako stała charakterystyczna cecha.

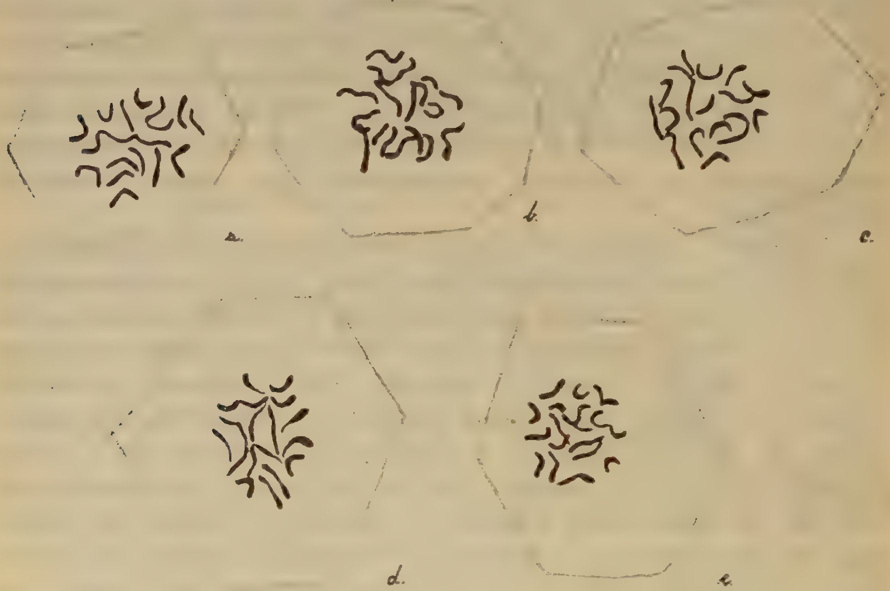
Dokładne badania morfologji chromosomów z uwzględnieniem tych trzech charakterystycznych szczegółów budowy przeprowadziła S v e s h n i k o w a 1927 r. w swej pracy nad morfologją chromosomów w obrębie 28-miu gatunków rodzaju *Vicia*. Na podstawie zbadanego materjału autorka doszła do wniosku, że chromosomy w obrębie garnituru u rodzaju *Vicia* można podzielić na 4 typy: do pierwszego należą te, których stosunek ramion jest nie mniejszy niż 2:1; do drugiego te, których stosunek ramion jest równy, albo większy niż 2:1; do trzeciego zalicza autorka chromosomy z główką; do czwartego zaś chromosomy z trabantami. Rozdzieliwszy chromosomy badanych gatunków według tych 4 typów, otrzymała dla każdego gatunku formułę złożoną z 4 liczb, z których pierwsza daje liczbę chromosomów pierwszego typu danego gatunku, druga drugiego, trzecia liczbę chromosomów trzeciego typu, czwarta wreszcie — liczbę chromosomów typu czwartego. Według podanej tablicy można dokładnie się zorjentować, czem różni się w obrębie rodzaju jedna systematyczna grupa od drugiej, ze względu na formę chromosomów, jak np. grupy *Ervum* i *Cracca* od grupy *Euvicia*, a nawet gatunek od gatunku. Znajduje ona dalej jeszcze różnice bardziej subtelne; wprawdzie oba gatunki *Vicia angustifolia* i *Vicia sativa* posiadają stosunek czterech typów chromosomów ten sam (0:1:5:0), to jednak u *Vicia angustifolia* stosunek między ramionami jest prawie równy 2:1, podczas gdy u *Vicia sativa* jest większy, niż 2:1; na tej podstawie autorka wyodrębnia wbrew A s c h e r s o n o w i, te dwa gatunki

Vicia angustifolia i *Vicia sativa*, co zgadza się z poglądami dzisiejszych systematyków i co również zostaje potwierdzone przez nieudawanie się krzyżówek między temi dwoma gatunkami.

Badania własne.

Materjał i technika.

Materjał do badań szlachetnych buraków cukrowych otrzymałam z Sandomiersko-Wielkopolskiej Hodowli Nasion w Antoninach pod Poznaniem.



Ryć. 5.

Badania karjokinezy somatycznej obejmowały sześć linij, w każdej zaś linji było zbadanych po kilka osobników.

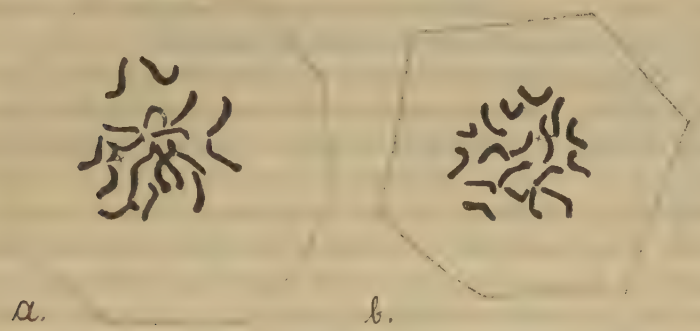
Karjokineza generatywna zaś obejmowała dziesięć roślin.

Dla zbadania karjokinezy wegetatywnej utrwaliłam młode korzonki, otrzymane z nasion wykiełkowanych w bibule. Rozpatrzone w nich były komórki tkanki twórczej. Korzonki te utrwalałam w płynie Navashin'a, składającym się z 10 części 1% kwasu chromowego, 4 części 40% formaliny i 1 część kwasu octowego lodowego. Skrawki grubości 4 μ barwiłam hematoksyliną żelazistą Heidenhain'a, lub też stosowałam barwienie fioletem gencjanowym według metody Newton'a, która znajduje w ostatnich czasach coraz częściej zastosowanie.

Pączki dla zbadania procesów podziałów allotypowych w komórkach macierzystych pyłku utrwalane były płynem Carnoy i barwione hematoksyliną żelazistą Heidenhain'a. Rysunki były wykonane przy pomocy aparatu Abbé'go, obj. im. Leitz'a $^{1}/_{12}$, ok. Zeiss'a K 20.

Karjokineza wegetatywna.

Zbadanie większej ilości płytek w komórkach różnych roślin wykazało normalną liczbę chromosomów $2n = 18$. Tylko w trzech przypadkach liczba chromosomów zdawała się wynosić 19. Przypuszczalnie jednak zachodzi tu zjawisko fragmentacji (Ryć. 6). Przemawia za tem fakt, że płytki te znaleziono w osobnikach, których inne płytki posiadały normalną liczbę — 18 chromosomom.



Ryć. 6.

Przystąpiłam do szczegółowego zanalizowania kompleksu chromosomów buraka cukrowego dla stwierdzenia, czy pomiędzy poszczególnemi linjami wyodrębnionemi przez selekcję występują jakieś różnice; teoretycznie możliwość taka istnieje ze względu na to, że burak cukrowy jest rośliną obcopylną i w silnym stopniu heterozygotyczną. Ze względu na małe rozmiary chromosomów najodpowiedniejszem stadjum dla studjowania kształtów ich okazała się metafaza. W płytkach tych, gdzie chromosomy posiadają maksymalną swą grubość, różnice występowały stosunkowo wyraźniej. Badanie telofazy w wyglądzie profilowym, które, jak wykazał Heitz, jest pomocne dla oceny względnej długości ramion chromosomów, nastręcza w badanym objekcie wielkie trudności ze względu na drobne rozmiary chromosomów.

Opierając się na klasyfikacji chromosomów wyżej przytoczonych autorów, możemy podzielić komples chromosomalny *Beta vulgaris* v. *saccharifera* na następujące typy (por. Ryć. 8).

I. Chromosomy dwuramienne (dwie pary) o ramionach mniej więcej równej długości:

a — para większych chromosomów
a^1 — para mniejszych chromosomów

II. Chromosomy dwuramienne (dwie pary) o jednem ramieniu znacznie krótszem od drugiego.

b — para większych chromosomów
b^1 — póra mniejszych chromosomów

III. Chromosomy dwuramienne (2—3 par), prawdopodobnie trójczłonowe o kształcie zmiennym, przypominającym niekiedy znak zapytania, literę S, lub trójkę. Miejsce przyczepu prawdopodobnie znajduje się w środkowej części w punkcie zagięcia.

IV. Chromosomy (3—2 par) w kształcie litery C lub słabiej zagięte, niekiedy pałeczkowate, o niewyraźnym punkcie przyczepu i dlatego trudne do zaklasyfikowania z punktu widzenia proporcji ramion.

Klasyfikacja ta da się jednak zastosować tylko z zastrzeżeniem, że kształt chromosomów w obrębie danego typu ma dużą skalę zmienności, i dlatego wyprowadzenie ogólnego schematu z poszczególnych linij, a nawet w obrębie jednej linji, nastręcza wielkie trudności, a czasem nawet jest wręcz praktycznie niemożliwe, tak zmienny i plastyczny jest tu kształt chromosomów. By to uwypuklić, zgrupowałam chromosomy kilku z badanych płytek w szeregi. W szeregu poziomym znajdujemy chromosomy z jednej komórki, szeregi pionowe dają pary chromosomów homologicznych z różnych płytek (Ryć. 8).

Przyjrzawszy się dokładnie płytkom (Ryć. 5) i uszeregowanym chromosomom spostrzeżemy, że w chromosomach typu pierwszego, ramiona posiadają mimo wszystko nie zawsze ściśle jednakową długość, różnica długości ramion nie jest tu jednak znaczna; pozatem w niektórych płytkach różnica wielkości obu par pierwszego typu a i a_1 występuje mniej wyraźnie, do tego stopnia, że trudno czasem zidentyfikować każdą z obu par. Dwie te pary odpowiadają prawdopodobnie w schemacie chromosomom oznaczonym przez Kuzminę numerami 8 i 9. Naogół ten typ chromosomów można w kompleksie rozpoznać, niekiedy jednak chromosom w okolicy

przewężenia grubieje, przybierając wygląd nieco podobny do chromosomu w kształcie litery C, szczególnie przy wyraźnem zaznaczeniu wygięcia.

Wśród chromosomów drugiego typu, oznaczonych literami b i b_1 również występuje para większych i para mniejszych. Chromosomy te dają się też łatwo wyróżnić. Czasami jednak ramię dłuższe nie jest proste, lecz wygina się w jedną lub drugą stronę. Zmienia się wtedy naturalnie kąt rozchylenia pomiędzy obu ramionami, a wygięcie nadaje im wygląd podobny do chromosomów typu trzeciego. Wielkość tych chromosomów również ulega wahaniom.

Kształt chromosomów typu trzeciego wykazuje dużą skalę wahań. Gdy występuje tu kształt trójki, wyraźne jest jedno charakterystyczne przewężenie, gdy jednak każde z ramion wygina się łukowato w innym kierunku, trudno jest się zorjentować, czy jest to tylko chwilowo przyjęty, czy też typowy kształt. Chromosomy te podobne są do tych, które w pracy swej Kuzmina oznacza Nr. 6 i które uważa za trójczłonowe. Prawdopodobnie w tym typie, oprócz przewężenia medjalnego, odpowiadającego miejscu przyczepu, jest jeszcze drugie dodatkowe przewężenie subterminalne, tak zwane „akinetische Querspalte" według Delaunay'a. Drugie to przewężenie jednak nie zawsze występuje dość wyraźnie naskutek różnego układu ramion.



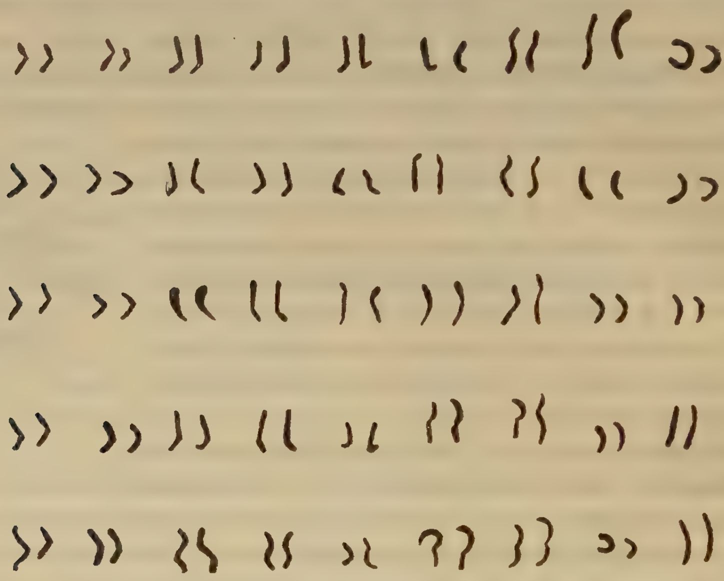
Ryć. 7.

Do czwartego typu należą trzy chromosomy pałeczkowate lub w kształcie litery C. Przewężenie w nich nie jest wyraźne, wskutek czego trudno jest ustalić, gdzie znajduje się ich punkt przyczepu. Również i one są zmienne w swej formie i czasami bardziej się wyprostowują, czasami bardziej zginają. Należy zaznaczyć, że Kuzmina w schemacie swym nie podaje typu, który możnaby uważać za odpowiadający tym chromosomom. We wszystkich typach według tej autorki przewężenie jest wyraźnie widoczne, czego moje obserwacje nie potwierdziły, pomimo tej samej metody utrwalania materjału.

Bardzo odpowiednim objektem dla zanalizowania zmienności chromosomów w materjale omawianym jest płytka w stadjum meta-anafazy przedstawiona na Ryć. 7. Chromosomy oznaczone tam Nr. 1, 7, 8, 9, 12, 15, 16 i 18 są w obrębie każdej pary zupełnie sobie równe, 13-ty jest w okresie dzielenia się, 11-ty zaś jeszcze nie zaczął się dzielić. Pary chromosomów oznaczone Nr. 4, 14 i 17 są niezupełnie identyczne, różnią się one tylko nieznacznie, jak np. jeden chromo-

som z pary Nr. 4 posiada jedno ramię trochę krótsze. Natomiast w parach oznaczonych Nr. 3, 5, 6 i 10 siostrzane chromosomy wykazują znaczne różnice kształtu, a czasami i wielkości. W parze takich różniących się chromosomów doskonale daje się skonstatować u jednego chromosomu bardzo wyraźne przewężenie, u drugiego zaś z tej pary zaznaczające się słabo.

Chromosomy oznaczone Nr. 2 są jeszcze połączone jednym końcem, a już daje się skonstatować różnica ich kształtu, tak, że gdyby były w dwóch różnych komórkach, zidentyfikowanie ich jako chromosomów homologicznych nastręczałoby trudności. Na podstawie tej obserwacji staje się zrozumiałem, dlaczego w niektórych płytkach



Ryć. 8.

taką wielką trudność przedstawia zidentyfikowanie homologicznych chromosomów. Dzięki ich wielkiej plastyczności, różnica kształtu daje się skonstatować nawet w obrębie dwóch chromosomów bezpośrednio po podziale jednego chromosomu macierzystego.

Kuzmina na podstawie swych badań nad morfologją somatycznego kompleksu chromosomalnego u 3-ch odmian *Beta vulgaris* wyprowadza schemat obejmujący kompleksy chromosomalne wszystkich trzech różniących się nieco cytologicznie odmian. Autorka zaznacza, że pomimo wyraźnej zmienności chromosomów w większości komórek kompleks chromosomów zróżnicowany jest w ten sposób, że daje się podciągnąć pod schemat ogólny, charakterystyczny dla

Beta vulgaris. Autorka jednakże sama stwierdza, że za małą ilość osobników zbadała, wobec czego uważa pracę swą jedynie za pierwszą próbę zanalizowania tak trudnego objektu, jakim jest *Beta vulgaris*. Gdy jednak porównamy schemat wyprowadzony przez Kuzminę z szeregowem ułożeniem chromosomów, jakie wyprowadziłam z komórek różnych osobników, to dojdziemy do wniosku, że kształty chromosomów w obrębie kompleksu nie przedstawiają tak jaskrawego zróżnicowania. Kuzmina łączy w jedną grupę dwa chromosomy Nr. 1 i 2 dwuramienne o niejednakowych ramionach, w drugą chromosomy z dwóch łukowato wygiętych części (Nr. 3, 4 i 5), inne zaś chromosomy opisuje indywidualnie, moim zdaniem zaś tylu indywidualnych typów, ile ustala Kuzmina, zróżnicowanie kompleksu nie przedstawia, lecz daje się sprowadzić do czterech głównych wymienionych poprzednio typów, których zidentyfikowanie wszelako nastręcza niekiedy trudności ze względu na wielką zmienność chromosomów.

Jak z badań powyższych wynika, wyprowadzenie schematu dla kompleksu chromosomalnego u *Beta vulgaris* nastręcza znaczne trudności ze względu na wielką plastykę kształtów chromosomów, którą możnaby było podciągnąć pod pojęcie zmienności fluktuacyjnej. Nie stwierdziłam natomiast stałych charakterystycznych różnic w obrębie poszczególnych linij. Taką zmienność możnaby przeciwstawić fluktuacjom kształtu chromosomów, jako zmienność strukturalną, naskutek dyferencjacji typu karjologicznego.

Bardzo wyraźna plastyczność kształtu chromosomów w podziałach somatycznych została opisana u polimorficznej rasy *Petunia violacea* przez Skalińską i Cuchtmanównę 1927 r. U *Petunji* ta zmienność jest według tych autorek odzwierciadleniem dużej skali wahań w morfologji tej rasy wielopostaciowej.

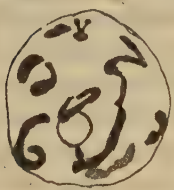
Karjokineza generatywna.

Stadja wczesnej profazy przebiegają zupełnie prawidłowo, mianowicie: w leptonemie dają się zauważyć długie i cienkie nici gęsto ze sobą splecione, poczem następuje skurcz synaptyczny, podczas którego widoczne jąderko wraz z nićmi przylegającemi do jednej ściany jądra. W pachynemie nici rozluźniają się, rozchodząc się szerzej i jednocześnie grubieją. Strepsinema wczesna, wykazująca rozszczepienie się podłużne nici, trudna była bardzo w preparatach do znalezienia. Często natomiast spotykałam stadja, w których widoczne było stopniowe przejście od strepsinemy do diakinezy. Widoczne tu jest jak chromosomy z różną szybkością przybierają kształt charak-

terystyczny dla diakinezy. Niektóre gemini są już utworzone, inne zaś chromosomy przedstawiają splecione pasma (Ryć. 9).

W diakinezie kształt chromosomów przedstawia pewne zróżnicowanie. A więc można tu spotkać charakterystyczne ósemki, układanie się na krzyż, tworzenie biwalentów złączonych końcami i ułożonych pod kątem, przyczem konjuganty mogą być jednakowej lub różnej wielkości i t. d. Zdaniem mojem chromosomy z diakinezy nie dają się jednak podciągnąć pod schemat, jaki podała Kuzmina. Kształty chromosomów podane przez autorkę w tym schemacie występują istotnie również u roślin przezemnie badanych, ale obok tego występuje i wiele innych konfiguracyj, co zdaniem mojem uniemożliwia wyprowadzenie schematu.

Zaobserwowałam również inne szczegóły, które w stadjum tem nie dają się typowo skonstatować. Niekiedy mianowicie występują tu chromosomy ułożone w trójki szeregiem (Ryć. 10 *a*), lub w po-



Ryć. 9.

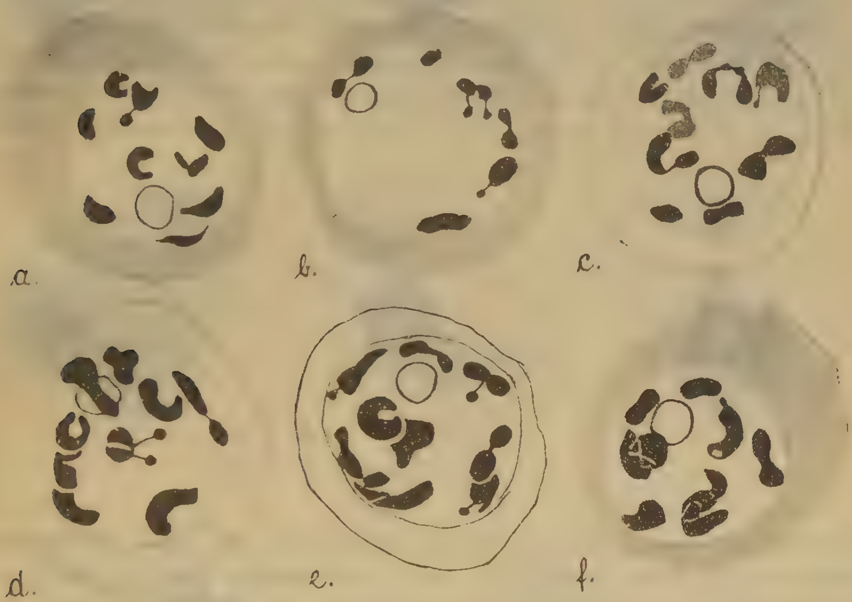


Ryć. 10.

staci obrączki niedomkniętej (Ryć. 10 *b*). Jest to jednak przypuszczalnie tylko krótkotrwałe ułożenie, ponieważ w metafazie z reguły znajdują się tylko normalne biwalenty.

Drugą cechą charakterystyczną i rzucającą się w oczy w diakinezie, są oddzielone „elementy chromosomalne" mniejsze lub większe, przypominające trabanty, występujące u różnych roślin w podziałach somatycznych. Różnią się one bardzo pod względem kształtu, wielkości, a nawet ilości w różnych komórkach. Mogą one być przyczepione do końca chromosomu lub też do środka. Czasami element taki przyczepiony jest w miejscu połączenia obu chromosomów w gemini. Chromosomalne te elementy przyczepione są przy pomocy cienkiej nitki, czasami zaś przylegają bezpośrednio do ciała chromosomu (Ryć. 11). Niekiedy są one widoczne jako małe punkciki, kiedyindziej zaś dochodzą prawie do rozmiaru uniwalentu. Kuzmina znajdywała czasami taki element chromosomalny, lecz najwyżej po

jednym w komórce i zawsze według niej w związku z określonym chromosomem. Nazywa go ona trabantem. Natomiast w moim materjale w komórkach zaobserwować można było niekiedy więcej, niż jeden taki element chromosomalny, czasami występowało ich dwa, najwyższą zaś liczbą i to dość często występującą, była trzy. Należy zaznaczyć, że niekiedy w diakinezie te elementy dodatkowe wogóle nie występują. Trudno ustalić, czy to samo pochodzenie posiadają oba typy fragmentów. Ponieważ jednak trabantów w podziałach somatycznych w ani jednym przypadku w badanych roślinach nie znalazłam, przypuszczalnie elementy spotykane w diakinezie po-

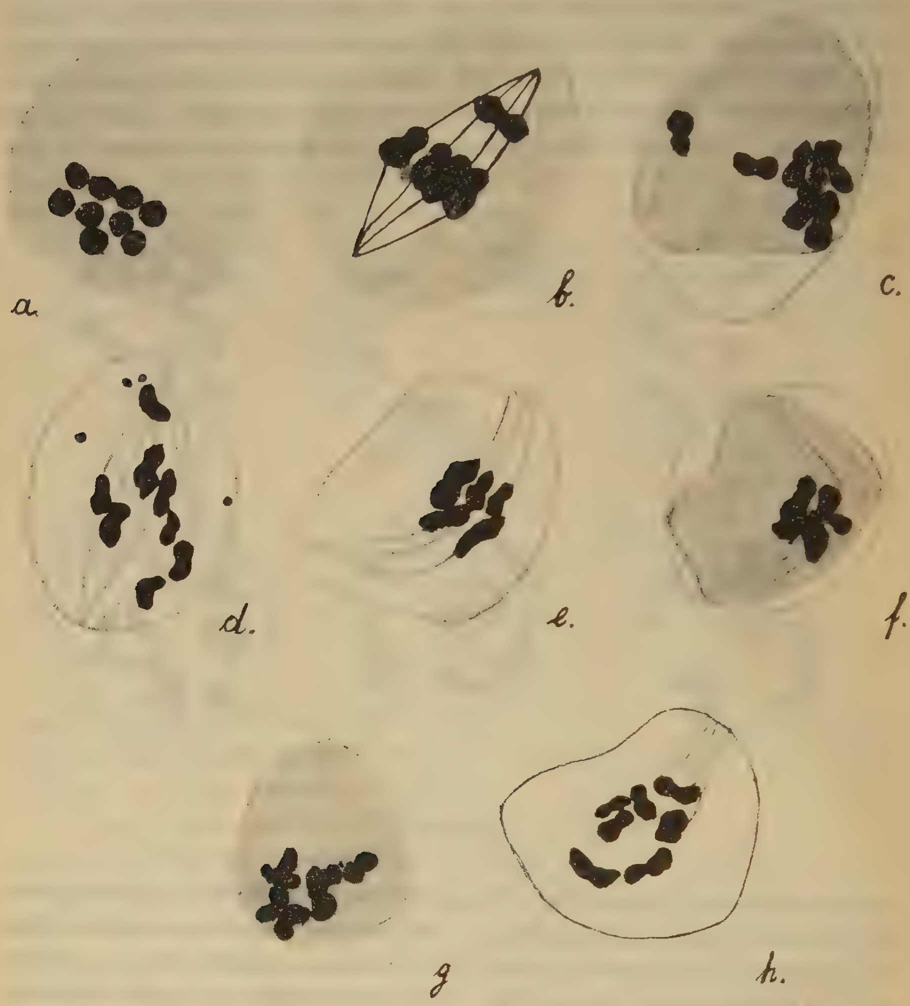


Ryć. 11.

wstały naskutek fragmentacji. Przypuszczenie to tembardziej jest prawdopodobne, że jak zaznaczyłam, w podziałach wegetatywnych w kilku przypadkach zamiast normalnej liczby chromosomów 18, znajdowałam 19 oddzielnych elementów. W późniejszych stadjach niekiedy elementy chromosomalne pozostają w cytoplazmie, co pozwala przypuszczać, że w fragmentacji mamy pierwsze zakłócenie w podziałach allotypowych.

Następne stadja wykazują u niektórych roślin dalej posunięte zakłócenia. Tylko w dwóch ze zbadanych dziesięciu osobników (II C 909 i III P 541) znaleziono podziały prawie całkowicie normalne,

w pozostałych zaś ośmiu, obok pewnej ilości prawidłowych podziałów, występowały odchylenia słabsze lub silniejsze, niekiedy zaś anomalje bardzo daleko posunięte. W metafazie normalnej, widzianej w przekroju poprzecznym, można bardzo wyraźnie obliczyć dziewięć



Ryć. 12.

biwalentów, co już było stwierdzone i przez innych badaczów (Ryć. 12 *a*). Ryć. 12 *h* pozwala zauważyć, że biwalenty nie są ściśle jednakowej wielkości, jednakże zhomologizowanie z określonemi typami chromosomów, ustalonemi w karjokinezie somatycznej, nie wy-

daje się możliwe. Często w tem stadjum można było spotkać odchylenia. Tak np. często można było zaobserwować parę chromosomów ułożonych wpoprzek wrzeciona (Ryć. 12 *b*), co już w pracy swej zauważyła Kuzmina. W innym przypadku para znajdująca się wyraźnie poza obrębem wrzeciona (Ryć. 12 *c*) posiada swoje własne słabo dostrzegalne włókna. Z odchyleń dalej posuniętych należy wymienić chromosomy nie układające się prawidłowo w płaszczyźnie równikowej komórki, lecz rozwleczona wzdłuż wrzeciona (Ryć. 12 *d*). Liczba biwalentów jest tu normalna dziewięć, poza wrzecionem widzimy cztery małe fragmenty, oddzielone widocznie od kompleksu chromosomów.

Na uwagę zasługuje również szczegół, że czasem wrzeciona wykazują podczas metafazy nieprawidłowe kształty: mianowicie w niektórych komórkach macierzystych wrzeciona zsunięte ku ścianie wykazują słabsze lub silniejsze łukowate wygięcie (Ryć. 12 *e*), w innych



Ryć. 13.

komórkach wygięcie to przechodzi w charakterystyczne załamanie pod kątem słabo rozwartym (Ryć. 12 *f*). Inny bardzo interesujący typ nieprawidłowości przedstawia wykształcenie wrzecion jednobiegunowych (Ryć. 12 *g*, *h*), przypominających obrazy, znalezione podczas podziałów allotypowych u haploidalnego mutanta *Oenothera franciscana* przez Davis'a i Kulkarnie'go (1930). W komórkach takich znajdujemy chromosomy przesunięte ku jednej ścianie komórki, na przeciwległej zaś ścianie połączone nici kinoplazmy tworzą jedyny biegun wrzeciona. Niekiedy przy tym samym ugrupowaniu chromosomów włókna wrzeciona zaznaczają się bardzo słabo lub nawet wogóle są zaledwie dostrzegalne. Tworzenie takich wrzecion jednobiegunowych może mieć znaczenie dla dalszego przebiegu podziałów.

Ana- i telofaza mogą wykazywać zupełnie normalne wykształcenie; dzieje się to prawdopodobnie w tych komórkach, w których

od stadjów początkowych aż do końca, to jest do utworzenia ziarn pyłku, przebieg podziału był normalny. Komórki zaś, które już w metafazie wykazywały odchylenia, zapewne i w dalszych stadjach odznaczają się mniej lub więcej posuniętemi zakłóceniami, prowadzącemi do degeneracji w tetradach lub też powstania komórek potomnych o nietypowej liczbie chromosomów. W ana- i telofazie anomalje polegają na pozostawianiu w cytoplazmie uniwalentów, biwalentów lub fragmentów chromosomów (Ryć. 13 *a*). Skupienia chromatyny na biegunach leżące robią w pewnych przypadkach wrażenie, jakby ulegały degeneracji (Ryć. 13 *b*). Podobna telofaza w degeneracji opisana jest przez Bleier'a (1930). Ryć. 13 *c* przedstawia telofazę, w której na jednym biegunie chromosomy mają układ normalny; można łatwo obliczyć ich liczbę, wynoszącą 9; na drugim biegunie chromosomy



Ryć. 14.

wykazują nienormalne skupienie, nadto część chromosomów pozostała w cytoplazmie. Powstała z takiej komórki interkineza posiadałaby dwa jądra o niejednakowej liczbie chromosomów i trzecie małe jądro z pozostałych w plazmie skupionych razem chromosomów. Niekiedy opóźniające się chromosomy mogą wcześnie ulec zrezorbowaniu przez cytoplazmę. Czasami chromosomy lub małe ich fragmenty, pozostające w cytoplazmie mogą dać początek mikrocytom. Poza odchyleniami wyżej opisanem spotykałam również zupełnie normalnie wykształconą interkinezę (Ryć. 14 *a*). W tem stadjum niekiedy widoczne są znowu elementy chromosomalne, występujące w diakinezie (Ryć. 14 *c*).

W metafazie i anafazie homeotypowej spotykamy jak i w poprzednich stadjach komórki z zupełnie normalnemi podziałami, oraz niekiedy z chromosomami wyrzuconemi poza obręb wrzeciona, ale pozatem zaobserwowałam jeszcze u jednej z badanych roślin inne

nietypowe zjawisko. Naogół w metafazie homeotypowej osie obu wrzecion ułożone są prostopadle względem siebie (Ryć. 15 *a*). Zrzadka jednak można znaleźć komórki, w których osie te są skierowane względem siebie równolegle (Ryć. 15 *b*), niekiedy leżąc bardzo blisko siebie (Ryć. 15 *c*). W krańcowych przypadkach zdarza się, że bieguny



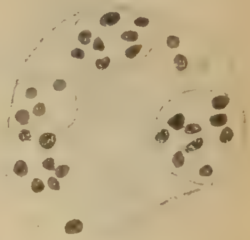
Ryć. 15.

takich wrzecion stykają się lub nawet zlewają się z jednej strony (Ryć. 15 *e*), lub nawet z obu (Ryć. 15 *f*), dzięki czemu oba kompleksy chromosomów ulegają połączeniu, tworząc diploidalną płytkę z 18 chromosomami (Ryć. 15 *g*).

W konsekwencji takiego ułożenia w metafazie, chromosomy ulegają następnie zgrupowaniu w stadjum telofazy tylko w dwóch okolicach komórki, odpowiadających jednocześnie biegunom obu wrzecion. Takie szerokie podwójne wrzeciona niekiedy zlewające się całkowicie tylko na jednym biegunie, kiedyindziej zaś na obu, były obserwowane w niektórych pylnikach jednej z badanych roślin (Nr. III C 197). Należy zaznaczyć, że komórki wykazywały cały szereg stadjów przejściowych od metafazy do telofazy z wrzecionami zupełnie złączonemi lub tylko zbliżonemi do siebie. Pozatem widoczne również były przejścia w meta-anafazach od wrzecion prostopadle ułożonych do ułożonych równolegle (Ryc. 15 *h*). W telofazie skupione chromosomy mogą tworzyć dwa oddzielne obok siebie położone jądra (Ryc. 16 *a*), blao też wytworzona zostaje jedno wspólne, obejmujące cały po-



Ryc. 16.



Ryc. 17.

dwójny kompleks chromosomów (Ryc. 16 *b*). W rezultacie otrzymujemy zamiast tetrad dyady o podwójnej liczbie chromosomów.

Tworzenie wrzecion jednobiegunowych również prowadzić może do powstawania dyad zamiast tetrad, gdyż w metafazie heterotypowej uniemożliwione zostaje rozejście się chromosomów na dwa jądra potomne; wszystkie one pozostają na jednym biegunie, dając w interkinezie jedno tylko jądro diploidalne. Taki rozwój przypuszczalnie prowadzi do utworzenia po uskutecznionym podziale homeotypowym zamiast tetrad dyady o jądrach diploidalnych.

Naskutek anomalij podczas podziałów można znaleźć po 5 lub więcej jąder o różnej liczbie chromosomów w stadjum poprzedzającem tetrady (Ryc. 17).

Przekroje pylników w stadjum tetrad przedstawiają obraz niejednolity, mianowicie możemy spotkać w niektórych komorach więk-

szość normalnych tetrad i normalnych ziarn pyłku, w innych natomiast znajdujemy oprócz normalnych również i zdegenerowane.

Należy zaznaczyć, że u pewnych osobników (przedstawicieli określonych linij) zakłócenia wyżej opisane nie występowały, u innych występowały zakłócenia drobniejsze, najdalej posunięte zaś skonstatowane zostały tylko u jednego osobnika.

Dyskusja.

Fragmentacja chromosomów zarówno w podziałach somatycznych jak i generatywnych była opisana kilkakrotnie w literaturze. Znanym przykładem fragmentacji somatycznego kompleksu chromosomalnego jest *Oenothera scintillans* (Hance 1918). Fragmentacji tu ulega kilka największych chromosomów. Podobny przypadek stanowi *Solanum tuberosum* opisany przez Lewitsky'ego i Benetzką (1927), gdzie w podziałach somatycznych, zamiast całych chromosomów, spotykają się rozfragmentowane elementy chromosomalne.

Jest rzeczą interesującą, że zjawisko fragmentacji w podziałach allotypowych zostało zaobserwowane u roślin wykazujących znaczną zmienność.

U *Petunji* wielopostaciowej fragmenty występują w diakinezie jako małe ciałka chromatynowe („trabantenähnliche Körper"), złączone z chromosomami bezpośrednio, lub na nitce (Skalińska i Cuchtman 1927). Zjawisko to podobne jest do obserwowanego przezemnie u *Beta vulgaris*. Podobny charakter nosi zjawisko fragmentacji, występujące w podziałach allotypowych u pomidorów, o której wzmiankują Huskins i Crane 1930.

Natomiast inny rodzaj stanowi fragmentacja opisana przez Meurman'a 1928 r. dla *Ribes Gordonianum*, gdzie mały fragment chromosomalny t. zw. „diminutive chromosome" występuje stale. Został on znaleziony w komórkach macierzystych pyłku w podziałach heterotypowych; jako spóźniający się może być często obserwowany pomiędzy obu biegunami. Może on być rozszczepiony lub pozostawać niepodzielony. Również został on zaobserwowany przez Meurman'a w metafazie podziałów somatycznych. Według tego badacza jest on trochę większy od trabantu, i fakt, że zawsze można go znaleźć jako „unpaired single unit", przemawia za tym, że mamy tu do czynienia zawsze z tym samym chromosomem obecnym w komórkach macierzystych pyłku. Autor nigdy nie zauważył nici, któraby łączyła element ten z którymś chromosomem w kompleksie.

Podobnie J. W. Lesley i M. M. Lesley w studjach nad potomstwem mutantów (triploidów i trisomów) u pomidorów znaleźli w komórkach macierzystych pyłku oprócz całkowitego kompleksu chromosomalnego dodatkowo element, odpowiadający połowie całego chromosomu. Autorzy na podstawie swych badań wyciągają wniosek, że w każdym z obserwowanych przypadków fragment ten jest częścią „of the same whole extra chromosome that is present in the simple trisomic type which the fragment containing plant most closely resembles“.

Fragmenty chromosomalne zostały więc opisane w dwóch ostatnio wymienionych pracach jako elementy, które uległy oddzieleniu od właściwego chromosomu i usamodzielnieniu. Natomiast elementy chromosomalne występujące w diakinezie w zbadanych przezemnie roślinach są zawsze połączone z chromosomem przy pomocy nici zupełnie wyraźnie widocznej pod mikroskopem, podobnie jak u Petunji; jeżeli zaś nici niema, to są one bezpośrednio złączone z chromosomem.

Dalszem odchyleniem jest powstawanie wrzecion jednobiegunowych. Wrzeciona takie zostały dotąd zaobserwowane jedynie u roślin haploidalnych, a bardzo dokładnie opisane przez Davis'a i Kulkarnie'go dla haploidalnej *Oenothera franciscana*. Konjugacji tu wogóle niema, gdyż roślina ta posiada tylko siedem chromosomów, wśród których niema homologicznych. Niekiedy powstaje następnie wrzeciono dwubiegunowe i wtedy chromosomy rozdzielają się w sposób nieprawidłowy, jak np. 1 i 6, 2 i 5, 3 i 4. Interkineza przedstawia wtedy dwa jądra: jedno większe, drugie zaś mniejsze. Po uskutecznionym podziale homeotypowym powstają cztery zdegenerowane ziarna pyłku. W niektórych przypadkach natomiast powstaje wrzeciono jednobiegunowe, i wówczas siedem chromosomów posuwa się do jedynego bieguna, układając się w grupę i otaczając się ścianą jądra. Powstaje jedno jądro, które odpowiada interkinezie normalnego podziału. Następnie chromosomy dzielą się podłużnie; następuje podział homeotypowy, który rozdziela połówki chromosomów na dwa bieguny wrzeciona. Zamiast dwóch wrzecion typowych dla podziału homeotypowego występuje tu tylko jedno. W konsekwencji takiego podziału powstają dwa pierwotne ziarna pyłku o haploidalnej liczbie chromosomów, tworząc dyadę. Tworzenie jednobiegunowych wrzecion u *Oenothera franciscana* prowadzi do utrzymania wskutek braku redukcji liczby chromosomów charakterystycznych dla tej haploidalnej rośliny. Podobnie powstanie jednobiegunowego wrzeciona u *Beta vulgaris* (z diploidalną liczbą) uniemożliwiając rozejście

się chromosomów na jądra potomne, prowadzi przypuszczalnie do utworzenia w interkinezie jednego jądra. W następnym podziale homeotypowym musi powstać tylko jedno wrzeciono zamiast dwóch, podobnie jak u *Oenothera franciscana*. W rezultacie zamiast tetrad powstają dyady o liczbie chromosomów diploidalnej.

Jak na zasadzie badań moich można przypuścić, diploidalne gamety mogły powstać u *Beta vulgaris* jeszcze na innej drodze, a mianowicie dzięki charakterystycznemu układaniu się wrzecion względem siebie w metafazie homeotypowej. Zlewanie się 2 wrzecion w jedno zostało opisane przez Karpechenko w krzyżówce *Raphanus sativus* × *Brassica oleracea* (1927) oraz przez Darlingtona u *Prunus avium* (1930). U *Beta vulgaris* oba wrzeciona typowo układają się prostopadle do siebie, czasem jednak daje się obserwować ułożenie równoległe, przyczem niekiedy wrzeciona mogą zlewać się w jedną całość. Takie złączone wrzeciona znajdowałam również w stadjum ana- i telofazy. Podział heterotypowy niewątpliwie miał tu miejsce, mimo to powstają diploidalne gamety na skutek połączenia wrzecion w drugiej metafazie.

Jaki jest dalszy los powstałych dyad trudno przewidzieć, gdyż olbrzymich ziarn pyłku t. zw. „giant pollen" nie znalazłam, badając gotowy pyłek. Być może więc, że powstałe dyady degenerowały lub rozwijały się dalej tylko w rzadkich przypadkach. Wobec rzadkości tego zjawiska być może, że nie udało mi się poprostu natrafić na ziarna olbrzymie przy rozpatrywaniu gotowego pyłku. Jeżeli jednak nawet ziarna pyłku ze zdwojoną liczbą chromosomów są zdolne do dalszego rozwoju, to możność otrzymania rośliny tetraploidalnej w naturalny sposób mało ma prawdopodobieństwa, gdyż wymaga połączenia diploidalnej gamety męskiej z takąż żeńską, diploidalne komórki rozrodcze zaś tworzą się tu tylko wyjątkowo.

Anomalje w podziałach allotypowych były spotykane niejednokrotnie u roślin, przyczem znane są dwie najważniejsze przyczyny powstawania tych odchyleń:

1) Wysoka heterozygotyczność u mieszańców gatunkowych lub mieszańców pomiędzy rodzajami. Badania cytologiczne takich mieszańców wykazują często w podziałach allotypowych cały szereg zakłóceń, przedewszystkiem niekonjugowanie chromosomów.

2) Wpływ warunków zewnętrznych, jak obniżenie lub podwyższenie raptowne temperatury, działanie emanacjami radu i t. d.

Analizę cytologiczną u mieszańców, w których miały miejsce zakłócenia daleko posunięte, jak brak konjugacji chromosomów, tworzenie uniwalentów, opóźnianie się chromosomów oraz w końcu po-

wstawanie dyad zamiast tetrad zawdzięczamy Tschermakowi i Bleierowi (1926) dla *Aegilops* × *Triticum*, Rosenbergowi (1926) dla mieszańców *Hieracium*, Karpechence (1927) dla *Raphanus sativus* × *Brassica oleracea*.

W omawianym materjale — pomimo niewątpliwej heterozygotyczności jego, — zakłócenia obserwowane nie znajdują zadawalającego wyjaśnienia składem genetycznym roślin, gdyż wszystkie badane rośliny stanowią przedstawicieli poszczególnych linji jednej wąskiej grupy systematycznej, mianowicie „*var. saccharifera*". W szeregu nowszych publikacji zwrócono uwagę na wpływ warunków zewnętrznych na zakłócenie przebiegu podziałów allotypowych; możliwem jest więc, że istnieje tu różny stopień wrażliwości na wahania warunków zewnętrznych u badanych linji.

Do badaczów, którzy prowadzili obserwacje nad wpływem niskiej temperatury na przebieg podziałów allotypowych należą: Sakamura (1920), który pod wpływem nagłego oziębiania (śnieg) otrzymywał ziarna pyłku hypo- i hyperdiploidalne u *Vicia Faba*. Badacz ten stwierdził powstanie dyad zamiast tetrad, wobec czego należy przypuszczać, że nastąpiło zahamowanie jednego z podziałów allotypowych.

Borgenstam (1920) pod wpływem stopniowego obniżania temperatury do 0° C. w ciągu 6 godzin, otrzymywała u *Syringa* zakłócenia w postaci 2-jądrowych komórek macierzystych pyłku, spóźnionego rozchodzenia się chromosomów, nieprawidłowego tworzenia wrzecion, oraz gamet ze zdwojoną liczbą chromosomów.

Michaelis (1926) kilkakrotnie ochładzał zerwane kwiatostany *Epilobium* do —4—5° C. Następował brak konjugacji chromosomów w diakinezie, nierównomierne rozchodzenie chromosomów na bieguny, zahamowanie heterotypowego podziału, któremu towarzyszy w następstwie restytucja jądra, co ostatecznie prowadzi do zdwojenia liczby chromosomów.

Rybin (1927) utrwalał pączki *Nicotiana Tabacum* 1 października, celem przekonania się, czy niska temperatura wpłynie na zakłócenia w podziałach, i rzeczywiście otrzymywał on cały szereg zaburzeń, prowadzących aż do utworzenia diploidalnych ziarn pyłku.

Badania Stow'a (1926, 1927) nad wpływem temperatury na podziały redukcyjne u *Solanum Tuberosum*, wykazały, że przy niższej temperaturze (+ 8·5°— + 12° C) gemini wykazują tendencję układania się w grupy albo skupienia, podczas gdy przy wysokich temperaturach (+ 25°— + 35° C) po większej części konjugacja chromosomów nie odbywa się, tak, że w płytkach metafazy hetero- i homeotypowej

jednocześnie występują biwalenty i uniwalenty. Zdarzało się też, że przy wyższych temperaturach podział homeotypowy odbywał się się zbyt wcześnie i dzięki temu Stow znajdywał niekiedy wyższą, niż diploidalna, liczbę chromosomów w heterotypowym podziale. Wreszcie przy 20^0 przebiega podział redukcyjny w pylnikach ziemniaka zupełnie prawidłowo; różne odmiany ziemniaka są w niejednakowym stopniu wrażliwe na wyższe temperatury.

Heilborn (1930) poddawał ścięte gałązki jabłoni wpływowi różnych temperatur w termostacie. Trzymając gałązki w temperaturze + 35^0 C, otrzymywał nieregularne podziały 2 typów; I-szy typ A wykazał lekkie osłabienie w konjugacji chromosomów; podziały jądra są normalne. Typ B wykazuje poza obniżeniem konjugacji pewne zakłócenia w tworzeniu wrzeciona, tak, że może nie nastąpić powstanie płytki równikowej. W krańcowym przypadku w braku konjugacji znajdował wszystkie chromosomy jako uniwalenty. Autor zaznacza, że ta sama temperatura w różny sposób może wpływać na różne pylniki lub pączki, pomimo, że wszystkie gałązki miały identyczne warunki. Liczba uniwalentów jest wskaźnikiem wrażliwości danego gatunku na wpływ temperatury. Z pracy Heilborna wynika, że poszczególne odmiany są w różnym stopniu wrażliwe na podnoszenie się temperatury; różne odmiany mają różne optima. U „weisser Astrachan" np. temp. + 20^0 już szkodliwie wpływa na konjugację.

Zakłócenia w podziałach allotypowych, które zostały przeze mnie skonstatowane u buraków, przypominają odchylenia zaobserwowane przez badaczów dla roślin, które ulegały wpływom warunków zewnętrznych, bądź to sztucznym czy naturalnym. Badania powyższe wykazują, że każda roślina posiada swoje optimum temperatury, w której konjugacja prawidłowo się odbywa. Obniżenie lub podniesienie temperatury poza granicę danego optimum indukuje różnego rodzaju odchylenia. Szczególnie zwracają uwagę na siebie badania Stow'a nad ziemniakami, który stwierdza, że ziemniak ma bardzo wąską granicę optymalną temperatury. Przytem według Heilborna, nawet pewne odmiany tego samego gatunku mogą posiadać różne granice optymalne, jak to stwierdził dla jabłoni.

Być może, że zakłócenia, które znalazłam w badanym materjale wywołane były wpływami temperatury w lecie 1929 roku. Mogły się one wyrażać w jakimś raptownem oziębieniu się w nocy, lub odwrotnie, nagłem podniesieniu się temperatury. Wprawdzie braku konjugacji ani razu nie skonstatowałam, jednak obserwowałam zaburzenia w ukształtowaniu się wrzecion, rozwleczenie chromosomów

wzdłuż wrzeciona, powstawanie dyad zamiast tetrad, oraz komórek macierzystych pyłku, tworzących zamiast normalnych tetrad po pięć jąder, słowem, szereg zakłóceń, przypominających w zupełności odchylenia spotykane u roślin poddanym wpływom różnych temperatur.

Fakt, że badacze, którzy studjowali przebieg podziałów allotypowych u *Beta vulgaris* nie znaleźli podobnych odchyleń, przemawia za tem, że albo zbyt mała ilość osobników została przez nich zbadana, albo warunki zewnętrzne w okresie zbierania materjału ich były bardziej jednolite, lub też wreszcie, że musieli mieć do czynienia z inną rasą, może bardziej odporną na wpływ warunków zewnętrznych. Należy zaznaczyć, że buraki, które otrzymałam z Sandomiersko-Wielkopolskiej Hodowli Nasion dla swoich badań, należą do ras w wysokim stopniu szlachetnych, co może być w związku z osłabioną odpornością na warunki zewnętrzne w niektórych linjach.

Streszczenie.

Na zasadzie badań cytologicznych nad burakiem cukrowym *(Beta vulgaris)* została potwierdzona liczba chromosomów — 9 parom.

Kompleks chromosomalny wykazuje zróżnicowanie na następujące typy:

1. Chromosomy dwuramienne o ramionach mniej więcej równej długości.

a — para większych chromosomów
a_1 — para mniejszych „

2. Chromosomy dwuramienne o jednem ramieniu znacznie krótszem od drugiego:

b — para większych chromosomów
b_1 — para mniejszych „

3. Chromosomy dwuramienne prawdopodobnie trójczłonowe o kształcie zmiennym, przypominającym niekiedy znak zapytania, literę S, lub trójkę. Miejsce przyczepu prawnopodobnie znajduje się w środkowej części w punkcie zagięcia.

4. Chromosomy w kształcie litery C lub słabiej wygięte, niekiedy pałeczkowate, o niewyraźnym punkcie przyczepu.

U niektórych zpośród badanych roślin karjokineza generatywna miała przebieg nietypowy i wykazywała następujące zakłócenia pomimo normalnej konjugacji:

I. W metafazie heterotypowej:

a) nieprawidłowe układanie się par chromosomów we wrzecionie;

b) wyrzucanie chromosomów poza obręb wrzeciona i wytwarzanie jąder dodatkowych;

c) nieprawidłowe kształty wrzecion, wykazujące łukowate wygięcie lub załamanie, lub występowanie wrzecion jednobiegunowych, których wykształcenie może prowadzić do zahamowania pierwszego podziału.

II. W metafazie homeotypowej występowanie jednej tylko płytki diploidalnej w jednym dużym wrzecionie naskutek łączenia się obu układających się równolegle wrzecion. Takie powstawanie diploidalnych płytek może mieć konsekwencje takie same, jak zahamowanie I-go podziału, a mianowicie powstawanie diploidalnych komórek rozrodczych.

Skonstatowane zakłócenia w podziałach allotypowych zostały przypuszczalnie wywołane warunkami zewnętrznemi (wahaniami temperatury).

Praca niniejsza została wykonana w Pracowni Botanicznej Wolnej Wszechnicy Polskiej w Warszawie.

Kierowniczce Pracowni p. Prof. Skalińskiej wyrażam w tem miejscu głęboką wdzięczność za cenne rady i wskazówki, oraz za prawdziwe zainteresowanie i pomoc okazywaną mi w czasie prowadzenia badań.

Jednocześnie składam podziękowanie Ministerstwu Rolnictwa za udzielenie mi stypendjum, które umożliwiło mi przeprowadzenie niniejszych studjów.

Summary.

This paper describes the cytological researches of the sugar beet *Beta vulgaris var. saccharifera*.

The somatic chromosome number of *Beta vulgaris* is $2n = 18$. Only three times the number of 19 chromosomes was found, but this phenomenon is rather due to fragmentation (Fig. 6 *a b*).

In the somatic set of *Beta vulgaris var. saccharifera* the following chromosome types can be distinguished:

I. Biarmed chromosomes with approximately equal arms.

a — one pair of larger chromosomes

a_1 — one pair of smaller chromosomes.

II. Biarmed chromosomes with a considerable difference between the lengths of both arms.

b — one pair of larger chromosomes

b_1 — one pair of smaller chromosomes.

III. Biarmed chromosomes in the form of a question mark (?), letter S or figure of three, probably with a subterminal secondary constriction varying considerably in shape, the attachment constriction being probably median.

IV. Chromosomes of the shape of the letter C, more or less bent, sometimes nearly straight (rod shaped) the attachment constriction being difficult to be discerned.

Nevertheless the shape of the chromosomes of each type is variable and therefore only in very favourable plates it is possible to identify the chromosomes with regard to their types (Fig. 5).

On the basis of observations of the meta — anaphase (Fig. 7), it has been established that sometimes the sister chromosomes show immediately after the division distinct differences in their shape as well as in their size. For example, in one of the two chromosomes mentioned above the constriction is marked very distinctly, in the other, on the contrary is rather difficult to be discerned.

Consequently the identification of homologous chromosomes is very difficult in most cases. Thus, a simple scheme of the chromosomal set of *Beta vulgaris* is rather difficult to be represented on account of the large variability (fluctuation) of the chromosome shape. However, no constant cytological differences have been found between the numerous lines of *Beta vulgaris* investigated by me.

In the meiotic divisions I observed contrarily to the researches made hitherto on the sugar beet (Kuzmina, van Heel) several remarkable abnormalities. In the stage of diakinesis in many pollen mother cells small „chromosomal elements" resembling satellites were found, They are directly attached to the chromosome, or sometimes connected by a fine thread (Fig. 7 *a—f)*. These bodies appear, probably, to be the products of fragmentation. This phenomenon exhibits striking similarity to the fragmentation which occurs in the pollen mother cells of the polymorphic race of *Petunia violacea* (Skalińska and Cuchtman, 1927) and resembles also perhaps the fragmentation in meiosis of tomato observed by Huskins and Crane (1930).

In later stages such bodies remain sometimes in the cytoplasm: this allows one to assume, that this process of fragmentation represents the first abnormality in the meiotic divisions.

Among the ten plants investigated, only in two the progress of the allotypic divisions was almost quite normal, the remaining eight, on the contrary, showed sometimes far reaching disturbances.

The following disturbances were observed: the arrangement of one chromosome pair in the heterotypic metaphase across the axis of the spindle (Fig. 12 *b*), as well as the presence of chromosomes, which were not arranged in the equatorial plate of the cell, were being spread along the spindle (Fig. 12 *d)*.

In the anaphase and telophase one or two chromosomes or their fragments were sometimes left between the two chromosome groups or they were scattered irregularly in the cytoplasma without passing to the poles (Fig. 13 *a—c)*. Sometimes they produced microcytes besides the four microspores in the tetrad.

The shape of the metaphase spindle showed various irregularities, namely: a more or less bowed shape (Fig. 12 *e*) and sometimes a characteristic break under a slightly obtuse angle (Fig. 12 *f)*. In rare cases there appeared unipolar spindles (Fig. 12 *g*, *h*), resembling figures found in meiosis of the haploid mutant of *Oenothera franciscana* (Davis and Kulkarni 1930).

The formation of such unipolar spindles leads, probably, to the development of dyads instead of tetrads; in the heterotypic metaphase, in such cases, the separation of the chromosomes is impossible. They remain all together at one pole and only one nucleus is formed, which corresponds to that in the period of interkinesis of normal meiosis.

During the homeotypic metaphase, in some cases, a fusion of two spindles was observed, which, contrarily to their typical arrangement lay sometimes parallel (Fig. 15 *b*) in this way, a common diploid plate is formed and consequently two giant cells with diploid numbers of chromosomes are developped instead of tetrads (Fig. 15 *g*).

On the basis of the above researches, it may be concluded that there are two ways of formation of diploid gametes in *Beta vulgaris*:

1) by the supression of the first division, in consequence of the development of an unipolar spindle instead of a normal bipolar in the heterotypic metaphase.

2) by the fusion of the two spindles in the homeotypic metaphase.

The abnormal allotypic divisions of the pollen mother cells established by me in *Beta vulgaris*, resembles the disturbances caused by sudden changes of the environmental conditions (temperature), previously observed by some investigators. It was, namely, established that every plant has it temperature optimum in which the conjugation of chromosomes takes place and the division progresses normally. The increassing or decreasing of temperature exceeding the limits of a given optimum may induce various abnormalities.

The probable causes of the disturbances in the allotypic divisions observed by me in *Beta vulgaris*, are considerable changes of temperature during the fixation of the materials.

This research was carried on in the Botanical Laboratory of the Polish Free University in Warsaw. I desire to express my heartiest thanks to my Chief Professor Dr. M. Skalińska for her inciting guidance, her continuous interest and assistance throughout the work.

I am also indebted to the Ministry of Agriculture for the grant, which enabled me to carry out my studies.

Objaśnienie rycin.

Ryć. 5 (*a—e*). Somatyczne płytki wykazujące po 9 par chromosomów, oraz zmienność chromosomów w poszczególnych kompleksach.

Ryć. 6 (*a—b*). *a* — somatyczna płytka z dodatkowym fragmentem (×); *b* — 1 chromosom przypuszczalnie uległ fragmentacji (×).

Ryć. 7. Meta-anafaza. 7 par chromosomów podzielonych każdy na dwa siostrzane, 1 para w okresie dzielenia się, 1 zaś chromosom jeszcze nie podzielony.

Ryć. 8. Chromosomy z 5-ciu płytek somatycznych. Chromosomy homologiczne w szeregach pionowych.

Ryć. 9. Komórki macierzyste pyłku — bardzo wczesna diakineza.

Ryć. 10 (*a—b*). Diakineza. *a* — 3 chromosomy połączone w łańcuch; *b* — niedomknięty pierścień z 3-ch chromosomów.

Ryć. 11 (*a—f*). Diakineza. Widoczne „elementy chromosomalne" przytwierdzone zapomocą nitki, lub bezpośrednio połączone z chromosomami.

Ryć. 12 (*a—h*). Metafaza. *a* — płytka złożona z 9-ciu chromosomów; *b* — wrzeciono w wyglądzie profilowym: jedna para ułożona wpoprzek wrzeciona; *c* — wrzeciono w wyglądzie profilowym: jedna para wyrzucona poza obręb wrzeciona; *d* — nieprawidłowe ułożenie chromosomów, w cytoplazmie 4 fragmenty; *e* — wrzeciono łukowato wygięte; *f* — wrzeciono załamane; *g, h* — dwa wrzeciona jednobiegunowe.

Ryć. 13 (*a—c*). Telofaza. *a* — fragmenty chromosomów pozostałe w cytoplazmie; *b* — chromosomy (prawdopodobnie uniwalenty) pozostałe w cytoplazmie — na biegunach masy chromatynowe zdegenerowane; *c* — na jednym biegunie komórki 9 chromosomów i w pobliżu jeszcze jeden, na drugim biegunie degeneracja. Jeden biwalent i jeden uniwalent w cytoplazmie.

Ryć. 14 (*a—c*). Interkineza *a* — normalna; *b* — w jednym jądrze tylko 8 chromosomów, 1 zaś w cytoplazmie; *c* — widoczne elementy chromosomalne z diakinezy.

Ryć. 15 (*a—g*). Metafaza II-go podziału. *a* — typowy wygląd; *b* — osie wrzecion skierowane względem siebie równolegle; *c* — oba wrzeciona silnie zbliżone; *d* — 2 komórki z jednej komory pyłkowej: komórka na lewo ma wygląd typowy, w komórce na prawo możliwe zlanie obu płytek w jedną z 18-ma chromosomami; *e* — komórki z dwoma wrzecionami połączonemi na 1-ym biegunie; *f, g* — dwa wrzeciona połączone w jedno; *f* — wygląd profilowy; *g* — płytka diploidalna, wyraźnie daje się skonstatować liczba chromosomów; *h* — telofaza z wrzecionami ułożonymi prawie równolegle do siebie.

Ryć. 16 (*a*—*b*). Telofaza homeotypowa: *a* — po dwa przylegające do siebie jądra umieszczone na 2-ch biegunach. W plazmie 2 oddzielne chromosomy i 2 tworzące dodatkowe jądro; *b* — dyada zamiast tetrady.

Ryć. 17. Pięć jąder (o różnej liczbie chromosomów) zamiast czterech.

Explanation of textfigures.

Fig. 5 (*a*—*e*). Five somatic plates of the root tip cells with 9 pairs of chromosomes.

Fig. 6 (*a*—*h*). *a* — a somatic plate with an additional fragment (×); *b* — in one chromosome probably fragmentation has taken place (×).

Fig. 7. Meta-anaphase of the somatic division.

Fig. 8. Chromosomes of 5 somatic plates disposed in horizontal rows. The homologous chromosomes in vertical rows.

Fig. 9. Pollen mother cells. Early diakinesis.

Fig. 10 (*a*—*b*). Diakinesis. *a*— chain of three chromosomes; *b* — open ring of three chromosomes.

Fig. 11 (*a*—*f*). Diakinesis. „Chromosomal elements" connected by a fine thread, or directly attached to the chromosomes.

Fig. 2 (*a*—*h*). Heterotypic metaphase: a — polar view; *b*—*h* side view: *b* — one pair of chromosomes lies across the axis; *c* — spindle in side view, one pair scattered in cytoplasm; *d* — abnormal arrangement of chromosomes, four fragments in cytoplasm; *e*) — a bowed spindle; *f* — a broken spindle; *g*, *h* — two unipolar spindles.

Fig. 13 (*a*—*c*). Heterotypic telophase: *a* — fragments of chromosomes remaining in the cytoplasm; *b* — chromosomes (probably univalents) remaining in cytoplasm on both poles; *c* — 9 chromosomes and one approching the upper pole; at the lower pole degeneration. One bivalent and one univalent in cytoplasm.

Fig. 14 (*a*—*c*). Interkinesis: a — normal view; *b* — only 8 chromosomes in one nucleus, the ninth scattered in the cytoplasm; *c* — „chromosomal elements" visible again,

Fig. 15 (*a*—*g*). Homeotypic metaphase: *a* — typical arrangement; *b* — both spindles lying parallel; *c* — both spindles approched to each other; *d* — two cells in one pollensac: the cell on the left has a typical arrangement, and in the cell on the right possible syndiploidy; *e* — cell showing a fusion of both spindles at one pole; *f*, *g* — a complete fusion of both spindles; *f* — side view: *g* — polar view; *h* — homeotypic telophase with parallel spindles.

Fig. 16 (*a*—*b*). Homeotypic telophase: *a* — at each pole two nuclei closely approached each other; *b* — dyad instead of a tetrad.

Fig. 17. Five nuclei (with a variable number of chromosomes) formed instead of four in the pollen mother cell.

Literatura.

1. Babcock, E. B. and Navashin, M. The Genus *Crepis*. Bibl. Gen. VI. 1930.

2. Bleier, H. Einfluss abnormaler Temperatur auf die Reduktionsteilung. Zeitschr. f. Zellf. u. mikr. Anat. Bd. II. H. I. 1930.

3. Darlington, C. D. Studies in *Prunus* III. Journal of Genetics V. 22. 1930.

4. Davis, B. M., and Kulkarni, C. G. The Cytology and Genetics of a haploid sport from *Oenothera franciscana*. Genetics V. 15. 1930.

5. Delaunay, L. N. Kern und Art (Typische Chromosomenformen). Planta Bd. 7. 1929.

6. Heilborn, O. Zytologische Studien über Pollensterilität von Apfelsorten Sv. Bot. Tidskr., Bd 22 H. 1—2, 1928.

7. — Temperatur und Chromosomenkonjugation. Sv. Bot. Tidskr. Bd. 24, H. I. 1930.

8. van Heel, D. Onderzoekingen over de ontwikkeling van de anthere, van den zaadknope en van het zaad bij *Beta vulgaris* L. Dissertation 1925. Naarden.

9. Huskins, C. L. and Crane M. B. The Genetics and Cytology of „Rogues" in Tomato, an Eversporting Character. Fifth Intern. Bot. Congress, Abstracts of Communications 1930.

10. Karpechenko, G. D. Polyploid Hybrids of *Raphanus sativus* × *Brassica oleracea*. Bull. of Appl. Bot., of Gen. and Plant-Breeding. XVII-th v. 1927.

11. Kuzmina, N. E. On the chromosomes of *Beta vulgaris* L. Bull. of Appl. Bot., of Gen. and Plant Breeding XVII v. 1927.

12. Levitsky, G. A. and Benetzkaja, G. K. On the karyotype of *Solanum tuberosum* Bull. of Appl. Bot., of Gen. and Plant-Breeding. XVII-th. v. 1927.

13. Lesley, J. W. and Lesley, M. M. Chromosome fragmentation and mutation in tomato. Genetics. v. 14. 1929.

14. Meurman, O. Cytological studies in the Genus *Ribes* L. Hereditas XII. 1928.

15. Rybin, V. A. Polyploid hybrids of *Nicotiana Tabacum* × *Nicotiana rustica* Bull. of Appl. Bot., of Gen. and Plant-Breeding. XVII-th. v. 1927.

16. Sakamura, T. Experimentelle Studien über die Zell- und Kernteilung mit besonderer Rücksicht auf Form, Grösse und Zahl der Chromosomen. Journ. of the Coll. of Science Imp. Univ. Tokyo. v. XXXIX. 1920.

17. Skalińska-Sachs, M. Le polymorphisme dans les lignées pures du *Petunia*. Mem. de l'inst. de Gén. de l'Éc. Sup. d'Agr. Varsovie 1921.

18. Skalińska, M. and Cuchtman, S. Karyologische Analyse einer polymorphen Rasse von *Petunia violacea* Lindl. Bibl. Univ. Liberae Polonae Fasc. 19. 1927.

19. Stow, J. A cytological study on the pollen sterility in *Solanum tuberosum* L. Imp. Ac. (Japan), Proc., vol. 2. N. 8. 1926.

20. — A cytological study on pollen sterility in *Solanum tuberosum*. Jap. Journ. of Botany, vol. III. N. 3. 1927.

21. Sveshnikova, I. N. Karyological studies on *Vicia*. Bull. of Appl. Bot. of Gen. and Plant Breeding. XVII. v. 1927.

22. Tschermak, E. und Bleier H. Über fruchtbare Aegilops — Weizenbastarde. Ber. d. deut. Bot. Ges. Bd. XLIV, h. 2. 1926.

Wpływ symbionta na zdolność wiązania azotu przez *Azotobacter chroococcum* Beij.

(L'action du symbionte sur le pouvoir fixateur de l'azote par l'*Azotobacter chroococcum* Beij.).

Napisała

FELICJA KOTKÓWNA.

Jednym z najbardziej żywotnych problemów ludzkości jest problem zdobycia niezbędnych związków azotu. Najpotężniejszem i niewyczerpanem źródłem azotu jest azot molekularny, którego jest w powietrzu około 78%. To też bardzo żywem zagadnieniem techniki nowoczesnej jest zdobycie możności taniego i racjonalnego wykorzystania azotu molekularnego. Kühn (9, p. 420) na podstawie obliczeń statystycznych z doświadczeń poletkowych dowiódł, że prócz azotu, który ziemia pobiera z powietrza w postaci amoniaku i tlenków azotu, otrzymuje jeszcze 32·87 funtów azotu na morgę z nieznanego źródła. Jakież jest to nieznane źródło? Ostatnie dziesiątki lat ubiegłego stulecia poświęcili badacze rozwiązaniu tego zagadnienia.

Epokowym stał się rok 1901, kiedy to Beijerinck (1) znalazł najenergiczniejszego ze znanych dotąd niesymbiontycznych asymilatorów wolnego azotu. Nazwał go *Azotobacter;* w późniejszej pracy w zależności od odmian nazwał: czerniejącą *chroococcum*, żółto-bronzową *vitreum*, ruchliwą *agile*. Praca o azotobakterze stała się pobudką do szeregu nowych badań. Pierwszym punktem spornym stała się kwestja współżycia azotobaktera z innemi bakterjami, żyjącemi w glebie, bądź to zdolnemi, lub niezdolnemi do samodzielnego wiązania azotu. Beijerinck i van Delden (2) twierdzili, że *Azotobacter* w płynnych pożywkach wiąże tak nieznaczne ilości azotu, że nie można na tem opierać poglądu, jakoby był on zdolny do wiązania azotu. Największą zdobycz azotu znajdował w kulturach azotobaktera, zakażanych symbiontem. Jako symbiontów azotobaktera po-

dają Beijerinck i van Delden (2) bakterje sporowe rodzaju *Granulobacter*, bezsporowe *Aërobacter* oraz jako stale towarzyszący, a mało znany *Bacillus Radiobacter.* Wszystkie badane gatunki rodzaju *Granulobacter* posiadają same przez się zdolność asymilacji wolnego azotu, a przy współżyciu z azotobakterem potęgują tą jego zdolność.

Freudenreich (3) znalazł w 250 cm^3 pożywki (2% mannitu) po 9 tygodniach w czystych kulturach azotobaktera przyrostu 2·9 *mg* azotu, zaś w zakażanych jeszcze innemi bakterjami 20 *mg* azotu. Równocześnie Gerlach i Vogel (4) znaleźli w przeciwieństwie do Beijerincka (1), że azotobakter sam wiąże więcej azotu, niż w kulturach mieszanych. Stoklasa (12) stwierdza, że azotobakter sam wiąże nieznaczne ilości azotu, a współżyjąc z radiobakterem w przeciągu 10 dni związał 124·5 *mg* azotu. Löhnis i Pillai (10) twierdzą, że w pewnej porze roku, mianowicie latem, azotobakter sam wiąże więcej azotu, albowiem bakterje grupy *Pneumoniae* wytwarzają kwas, który działa szkodliwie na azotobaktera. Kwestja ta została więc sporną. Drugą kwestją trudną do rozwiązania okazał się skład najodpowiedniejszej dla azotobaktera pożywki. Przy doborze pożywki dla azotobaktera różni badacze zmieniają to jedną, to drugą składową część jej, a szczególnie źródło węgla. Gerlach i Vogel (4) uważają cukier gronowy za najodpowiedniejsze źródło węgla dla azotobaktera. Stoklasa (12) zaś ksylozę i arabinozę, Koch (6) podaje 5% manitu, Krzemiewska (7) uważa, że dla najekonomiczniejszego wykorzystania pożywki przez azotobaktera najodpowiedniejszym jest jeden procent glukozy. Ostatnio przytoczeni badacze twierdzą, że dodatek próchnicy działa silnie pobudzająco na azotobaktera. Starali się więc wytłumaczyć, na czem to polega. Już Beijerinck i van Delden (2) zauważyli, ze dodatek ziemi wysterylizowanej do pożywek mineralnych znacznie zwiększa wiązanie azotu przez azotobaktera. Twierdzili oni, że ziemia przysparza azotobakterowi azotu, podnosząc tem jego zywotność. Stoklasa (12) zaś twierdzi, że obecność furfuroidów w ziemi służy dla azotobaktera za źródło węgla. Heinze (5) uważa, że próchnica nie bezpośrednio, lecz pośrednio, to znaczy, przez swe produkty rozkładu działa jako źródło węgla dla azotobaktera. Krzemieniewski (8) twierdzi, że próchnica sama przez się nie dostarcza azotobakterowi żadnych związków niezbędnych do życia; jej działanie jest li tylko katalityczne. Söhngen (11) twierdzi również, że wpływ ziemi na wzmożoną asymilację azotu przez azotobaktera nie polega na tem, że ziemia dostarczałaby związków organicznych lub nieorganicznych; działanie ziemi redu-

kuje się li tylko do tego, że ziemia jako kompleks kolloidów umożliwia szybszą absorbcję tlenu i azotu. Twierdzenie to coraz bardziej się umacnia. Teorja katalitycznego działania ziemi jest bardzo słuszna, nie można jednak orzec, że li tylko na tem polega działanie próchnicy. Możliwe jest bowiem, że ziemia dostarcza azotobakterowi azotu, lecz nie wiemy w jakiej postaci. Znane jest nam tylko, że związki azotu znajdują się w próchnicy przeważnie w postaci związków nierozpuszczalnych. Co się tyczy kwestji obecności azotu w pożywkach dla azotobaktera, to i tu spotykamy się ze zdaniami sprzecznemi. Wielu badaczy twierdzi, że początkowe słabe dawki azotu wpływają dodatnio na wzmożoną asymilację azotu przez azotobaktera.

Beijerinck (1) uważa, że czyste kultury azotobaktera rosną w płynnych pożywkach daleko szybciej przy dodatku drobnych dawek związków azotowych, szczególniej azotanów. Znalazł on np. bardzo intensywny rozwój przy dodatku 0·1% azotanu potasu; sole amonowe zaś są trudniej przyswajane, a jeszcze trudniej pepton. Wszystkie jednak działają mniej lub więcej dodatnio. Gerlach i Vogel (4) natomiast podają, że azotobakter w pożywkach bogatych w związany azot nie rośnie.

Dzierzbicki również twierdzi, że azotobakter w obecności związków azotu nie wiąże molekularnego, wobec czego uważa, że nawożenie azotowe osłabia działanie azotobaktera w glebach uprawnych.

Zadaniem niniejszej pracy głównie było wyświetlenie wyżej poruszonych zagadnień.

Doświadczenia własne.

W poniższem zestawieniu podano szereg doświadczeń, wykonanych nad azotobakterem. Wszystkie doświadczenia dadzą się ująć w trzy wytyczne punkty, które zkolei dzielą się na podrzędne:

I. Wiązanie azotu przez azotobaktera w zależności od warunków:

a) czasu,

b) koncentracji cukru,

c) obecności ziemi (ewentualnie wywaru z ziemi) w pożywce.

II. Wpływ początkowych dawek azotu (w postaci fosforanu amonu) na wiązanie azotu przez azotobaktera:

a) pożywka mieralna,

b) pożywka mineralna i ziemia.

III. Wpływ współżycia azotobaktera z innemi bakterjami na wiązanie azotu przez azotobaktera:

a) samodzielnie niewiążące azotu:
1. „Towarzysz“,
2. *Coli* z jelit ludzkich,
3. *Coli* z wody,
4. *Mesentericus*,
5. *Aërogenes;*

b) wiążące azot przy współżyciu z motylkowemi:
1. *Radicicola (Lupini lutei)*,
2. *Radicicola (Caraganae)*,
3. *Radicicola (Trifolii)*;

c) wiążące samodzielnie azot:
1. Zdegenerowana forma radiobaktera (Beijerinck).

Metodyka.

Metodyka badań była wszędzie jednakowa. Do każdej kolby dawano następującą pożywkę:

100 *cm*^{3} H_2O wodociągowej
1·7 *gr* cukru trzcinowego
0·1 *gr* $CaCO_3$
0·1 *gr* $K^2H\ PO_4$
0·05 *gr* NaCL
0·05 *gr* $MgSO_4$

ślady Fe, Mn i Zn.

Pożywki te sterylizowano przez 3 dni podrząd po 20 minut w temp. 100° C. Zakażano trzy-dniowemi kulturami azotobaktera z agaru mannitowego. Kolby trzymano zawsze w termostacie w temp. 26—27° C. Azot określano metodą Kjeldahl'a. Przed spalaniem kontrolowano zawartość każdej kolby mikroskopowo, aby się przekonać, czy nie jest zakażona innemi bakterjami. Nastawiano zwykle do każdego doświadczenia podwójną ilość kolb, by uniknąć błędów. Ziemię używano kompostową. Jako stałą pożywkę dla azotobaktera używano następującą:

2% mannitu
2% agaru
0·1% K_2HPO_4
0·1% $CaCO_3$

na 100 *cm*^{3} H_2O. Próbówki trzymano zwykle w temperaturze pokojowej.

Zachowanie się w hodowlach i wygląd azotobaktera, użytego do doświadczeń.

Do doświadczeń użyto kilka ras azotobaktera, które się różniły między sobą specyficznie pod względem morfologicznym. Np. jedna rasa, którą wielokrotnie przeszczepiano w okresie dwuletnim, nigdy nie bronzowiała. Inna rasa, która odróżniała się szybkim i doskonałym rozwojem po przeszczepieniu na skośny agar mannitowy, była białą, po kilku dniach (w temp. pokojowej, jak również w termostacie przy 26^0—27^0 C) bronzowiała i stopniowo przechodziła w barwę czarną. Z pomiędzy innych ras ta wyróżniała się swoim charakterystycznym wzrostem, tworzyła grube pokłady bakterji w postaci warkoczy. Inna rasa, pochodząca z Holandji, przechodziła tylko krótkie stadjum koloru białego i odrazu czerniała. Rosła ona również bardzo charakterystycznie: powierzchnia skośnego agaru mannitowego pokrywała się małemi, groszkowatemi, płaskiemi kolonijkami.

Löhnis i Pillai twierdzą, że zupełnie czyste kultury azotobaktera nie czernieją. Na zabarwienie, twierdzą oni, wpływa grzybek *Dematium pullulans*, który rosnąc na agarze mannitowym, szybko zmienia kolor od bronzowego do czarnego. Opierając się na niżej przytoczonych doświadczeniach, stwierdzono, że zabarwienie azotobaktera nie zależy od obecności żadnego grzybka, a jest jedynie charakterystyczną cechą rasową.

I. Wiązanie azotu przez azotobaktera w zależności od warunków.

Wyodrębniano azotobaktera metodą kultur elektywnych w kolbach Erlenmayera z następującą pożywką:

100 cm^3 wody wodociągowej
2 *gr* manitu
0·1 K_2HPO_4
0·05 *gr* $CaCO_3$.

Zakażano niewielką ilością ziemi ogrodowej. Kolby wstawiano do do termostatu w temp. 27^0 C. Po 2—3 dniach, gdy utworzył się na powierzchni pożywki kożuszek, przeszczepiano do erlenmayerki z wyżej wymienioną pożywką jedno oczko. Poczem wstawiano erlenmayerkę do termostatu (temp. 27^0 C). Po 3—4 dniach utworzył się na powierzchni pożywki ciemny, śluzowaty, zwarty kożuch. Badania mikroskopowe kożuszka wykazały: drobne, nieruchliwe pałeczki oraz dość duże owalne bakterje. Te ostatnie, jak je Beijerinck nazwał

Azotobacter, występują w postaci diplokoków. Z pożywki płynnej przeszczepiano na szalki Petriego z takąż samą pożywką mannitową, zestaloną agarem. Po 2-ch dniach wyróżniano na szalkach następujące typy kolonji: małe, okrągłe o brzegach równych, przeźroczyste, i dość duże matowe szaro-żółte, o brzegach nierównych, ziarniste, ułożone warstwami nierównomiernie. Pierwsze są to kolonje drobnej pałeczki, drugie azotobaktera. Obserwacja mikroskopowa wykazała, że kolonje azotobaktera bywają prawie zawsze zanieczyszczone małemi pałeczkami. Pałeczki te dają się z łatwością wyizolować. Trudniejszem zadaniem okazało się wyizolowanie czystej kultury azotobaktera, albowiem w wydzielonym przezeń śluzie znajdowała się zawsze owa pałeczka, jak ją nazywać będziemy — „towarzysz". Czyste kultury azotobaktera otrzymano z kultur jednodniowych, na których nie utworzył się jeszcze kożuszek. Na szalkach Petri'ego z agarem mannitowym otrzymano typowe kolonje azotobaktera duże, szaro-żółtawe, ziarniste, ułożone fałdami koncentrycznie.

Zaznaczyć należy, że kolonje zanieczyszczone „towarzyszem" różnią się od czystych kolonij azotobaktera. Pierwsze są raczej gładkie i silnie śluzowate, drugie — fałdowane i raczej suche.

Przeszczepione na agar skośny mannitowy tworzyły grube pokłady bakteryj, ułożone w postaci warkoczy. Niektóre po kilkunastu dniach zaczęły bronzowieć, aż wreszcie stawały się czarne. Jest to rasa nazwana przez Beijerincka: *Azotobacter chroococcum*. Inna rasa, wyizolowana równocześnie z tejże samej ziemi, nigdy nie bronzowiała. Mając dwie rasy azotobaktera zajęto się kwestją wiązania azotu przez nie. Czyżby te dwie różniące się między sobą zewnętrznie rasy różniły się również zdolnością wiązania azotu?

Pożywki przygotowane w wyżej podany sposób zakażono: 2 kolby azotobakterem *chrooc.*, 2 kolby azotobakterem jasnym, 2 kolby z pożywką zostały niezakażone, jako kontrole. Kolby pozostawały przez 10 dni w termostacie (27^0 C). W kolbach zakażonych azotobakterem *chrooc.* rozwój był dobry. Śluzowaty, gruby kożuch utworzył się na powierzchni pożywki. W kolbach zakażonych rasą jasną rozwój był daleko słabszy. Jak widzimy z tabl. I, azotobakter *chrooc.* wiąże na jeden gram cukru trzcinowego w okresie 10-dniowym o 0·85 *mg.* N więcej, niż rasa nieciemniejąca. Co powoduje tę różnicę?

Już przy nastawianiu surowych kultur zauważono, że w kulturach, które dłużej stały, tworzył się grubszy kożuszek, co wskazuje na lepszy rózwój azotobaktera. Wraz zaś z wzmożonym rozwojem powiększa się ilość związanego azotu. Pożywka zwykła z $1^0/_0$ cukru trzcinowego (wyniki por. tab. II).

Tabela I.

Rasa	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg* brutto	netto	w %
Azotob. chrooc. (czerniejąca)	0·5	3·1	2·6	100
		3·3	2·8	
Azotob. jasny . . .	0·5	2·3	1·8	69·2
		2·5	2	

Tabela II.

Czas trwania doświadczenia	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg* brutto	netto	w %
7 dni	0·5	1·9	1·4	100
14 „	0·5	2·9	2·4	171·5
21 „	0·5	3·2	2·7	190·2
28 „	0·5	3·3	2·8	200

Jak się okazuje wraz z trwaniem doświadczenia wzrasta lilość *mg* związanego azotu, ale tylko do pewnej granicy — dopóty, dopóki źródło C nie zostaje zupełnie wyczerpane. To też widzimy, że w pierwszych 7-miu dniach azotobakter związał 1·4 *mg* N, w następnych 7-miu tylko 1 *mg* N, w późniejszym okresie 7-dniowym już tylko 0·3 *mg* N, aż wreszcie po 28-miu dniach, czyli po 4-tym okresie 7-dniowym ilość związanego azotu jest już bardzo nieznaczna, 0·1 *mg* N.

Że to stopniowe znaczne obniżanie się ilości związanego azotu jest spowodowane wyczerpaniem się cukru w pożywce, świadczy o tem następne doświadczenie (tabela III), w którem zastosowano dwie różne koncentracje cukru przy równem trwaniu doświadczenia (28 dni).

Tabela III.

Ilość cukru w %	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg* brutto	netto	w %
1	0·5	3·2	2·7	100
2	0·53	4·9	4·37	162

Z pierwszego doświadczenia widzimy, że azotobakter w pierwszych dniach wiąże więcej N, niż w następnych. W pierwszych

7-miu dniach na 1 *gr* cukru związał 1·4 *mg* wolnego azotu, w późniejszych już tylko nieznaczne ilości.

Z drugiego doświadczenia widzimy, że wyższa koncentracja cukru przy dłuższem trwaniu doświadczenia wpływa dodatnio na wiązanie azotu. Aby się przekonać, jaką jest optymalna ilość cukru w danym okresie, wykonano następujące doświadczenie, które trwało 20 dni.

Tabela IV.

Ilość cukru w %	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg*		
		brutto	netto	w %
1	0·7	3	2·3	100
2	0·73	4·46	4·73	205·5
4	0·8	3·78	2·98	129
6	0·85	3 64	2·79	121·3

Jak wynika z tego doświadczenia, najbardziej sprzyjającą koncentracją dla wiązania azotu przez azotobaktera w okresie 20-dniowym jest 2% cukru. Zaznaczyć jednak należy, że wzmożone wiązanie azotu jest nietylko zależne od koncentracji cukru, lecz również od czasu trwania doświadczenia, co wynika z tabeli V, gdzie przy 2% cukru jedno doświadczenie przerwano po 20 dniach, drugie dopiero po 28 dniach.

Tabela V.

Czas trwania doświadczenia	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg*		
		brutto	netto	w %
20 dni	0·73	5·46	4·73	100
28 „	0.73	6·48	5·75	121·5

Z tabeli tej widzimy, że przy wyższej koncentracji cukru (2%) okres 28-dniowy jest bardziej sprzyjającym d!a dobrego rozwoju azotobaktera, niż 20-dniowy, czyli że w okresie 20 dniowym w danych warunkach azotobakter nie wyczerpał jeszcze wszystkiego cukru.

Jak już wielu badaczy zauważyło, na wiązanie azotu przez azotobaktera wywiera obecność ziemi w pożywce ogromny wpływ. W pożywce bez ziemi rozwija się azotobakter słabo i powoli. Przyrost azotu jest bardzo mały. W pożywce z ziemią rozwój jest szybki, przyrost azotu bardzo znaczny. Do 100 cm^3 zwykłej pożywki dodawano

1 *gr* ziemi kompostowej, którą sterelizowano 3-krotnie wraz z pożywką. Ilość cukru 2%.

Tabela VI.

Czas trwania doświadczenia	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg*		
		brutto	netto	w %
7 dni	8·68	13·3	4·62	100
10 „	8·68	17·5	8·82	190·9
14 „	8·68	19·6	10·92	236
28 „	8·68	16·38	9·7	209·5

Dla porównania wpływu ziemi weźmiemy np. okres 28-dniowy.

Tabela VII.

Skład pożywki	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg*		
		brutto	netto	w %
Bez ziemi	0·73	5·47	4·74	100
2 *gr* ziemi kompostowej	9·59	35·44	25·84	545·2

W tych samych warunkach azotobakter w obecności ziemi wiąże o 445% więcej, niż bez ziemi. Ziemia więc, jakkolwiek wyjałowiona przez sterelizację (3 dni z rzędu po 30 min. w temp. 100° C), a zatem nie zawierająca mikroorganizmów, któreby potęgowały wiązanie azotu przez azotobaktera, jak tłomaczyli to zjawisko Beijerinck i van Delden, zawiera coś, co wpływa ogromnie na dobry rozwój azotobaktera i tem samem na wzmożone wiązanie wolnego azotu.

Lecz czyż zwiększona ilość ziemi wzmaga wiązanie azotu? Przy zwiększonych ilościach ziemi daje się zauważyć to samo zjawisko, co przy wyższych koncentracjach cukru; i tutaj objawia się pewne optimum, poza którem wyższa koncentracja działa raczej ujemnie, jak to wynika z następnego doświadczenia, przedstawionego w tabeli VIII. Czas doświadczenia: 10 dni. Pożywka zawierała 1/20 mola cukru trzcinowego.

Tabela VIII.

Skład pożywki	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg*		
		brutto	netto	w %
Bez ziemi	0·65	3·9	2·25	100
0·1 *gr* ziemi . . .	3·6	7·5	3·9	173·3
0·5 „ „ . . .	9	14·5	5·5	244
1 „ „ . . .	11·2	19·6	8·4	373
3 „ „ . . .	15·16	25·6	10·4	464
5 „ „ . . .	28·37	34·37	6·0	266

II. Wpływ początkowych dawek N.

Jak już wyżej wspomniano, ziemia zawiera jakiś składnik, który znacznie potęguje rozwój azotobaktera. Lecz cóż to jest za czynnik? Czyżby zapas związków azotowych, znajdujących się w ziemi? W 2-ch gramach ziemi kompostowej, którą brano do tego doświadczenia, było 12·2 *mg* N. Czy początkowe dawki związków azotu mogą wpłynąć dodatnio na wiązanie azotu przez azotobaktera. Aby się przekonać, dodawano do 100 cm^3 pożywki płynnej, zwykłej, $^1/_{20}$ mola cukru trzc., bez ziemi, jak również do tejże pożywki z ziemią różne ilości azotu w postaci fosforanu amonu. Doświadczenie trwało 10 dni.

Tabela IX.

Skład pożywki	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg*		
		brutto	netto	w %
Bez azotu	0·6	3·1	2·5	100
N 0·12 *mg*	0·72	3·18	2·46	98·4
N 0 6 „	1·09	2·1	1·01	40·4
N 1·2 „	1·58	2·1	0·6	24
N 6·0 „	6·2	6·2	0	—
N 12·0 „	12·3	12·35	0	—

Do następnego doświadczenia, które trwało 10 dni, brano zwykłą pożywkę, dodając 2 *gr* ziemi kompostowej i różne ilości azotu (tab. X).

Początkowe zatem dawki N zarówno w pożywce bez jak i z ziemią hamują wiązanie azotu przez azotobaktera. Większe dawki, 12 i 6 *mg*, paraliżują nawet rozwój azotobaktera. Związki azotowe w tej więc postaci działają bezsprzecznie ujemnie, co obrazuje niżej przy-

Tabela X.

Skład pożywki	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg*		
		brutto	netto	w %
Bez dodatku N . .	10·02	29·04	19·02	100
N 0·12 *mg*	10·5	19·5	9·45	49·3
N 0·6 „				
N 1·2 „	11·1	13·4	3·3	17·3
N 6·0 „	17·0	17·76	0·76	4·1
N 12·0 „	21·49	21·5	—	—

toczona tabela (XI). Czas trwania doświadczenia: 10 dni. Skład pożywki: zwykła z 2 *gr* ziemi. Te 2 *gr* ziemi zawierały 12 *mg* N. Druga więc grupa kolb zawierała w każdej prócz 12 *mg* N w postaci nieznanych związków azotu z gleby, jeszcze 12 *mg* N w postaci fosforanu amonu.

Tabela XI.

Skład pożywki	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg*		
		brutto	netto	w %
Bez N	12·2	34·3	22·1	100
12 *mg* N	21·49	21·5	—	—

Ziemia działa więc dodatnio na wiązanie azotu przez azotobaktera nie przez swe związki azotowe, a dzięki nieznanym bliżej składnikom. Nietylko sama ziemia działa pobudzająco, ale nawet wyciąg z ziemi. Aby się o tem przekonać, brano wyciąg z ziemi próchniczej: 150 *gr* ziemi gotowano na wolnym ogniu z 300 cm^3 wody wodociągowej przez kilka godzin. Gdy woda zbronzowiała, przesączano ją kilkakrotnie przez watę szklaną, dopóki nie otrzymano zupełnie klarownej przesączy. Otrzymano 125 cm^3 wywaru, który dodawano w ilości 10 cm^3, 5 cm^3 i 1 cm^3 do 50 cm^3 pożywki o podwójnej koncentracji, dopełniając do 100 cm^3 wodą wodociągową. Doświadczenie trwało 14 dni. Pożywka zwykła z 1% cukru trzcinowego.

Jak widzimy z tabl. XII, wyciąg z ziemi wywiera dobry wpływ na wiązania azotu przez azotobaktera. Wyższe koncentracje wywaru wzmagają wiązanie N, ale, jak zobaczymy z tablicy XIII, 10 cm^3 wywaru stanowią już optymalną jego ilość; wywar w większych ilo-

Tabela XII.

Skład pożywki	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg*		
		brutto	netto	w %
Bez wywaru . .	0·56	3·01	2·45	100
1 cm^3 „ . .	0·7	3·64	2·94	120
5 cm^3 „ . .	1·68	5·88	4·2	171·5
10 cm^3 „ . .	3·08	8·26	5·18	211·5

ściach działa szkodliwie. Czas trwania doświadczenia: 14 dni. Do pożywki zwykłej dodano różne ilości wywaru.

Tabela XIII.

Skład pożywki	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg*		
		brutto	netto	w %
10 cm^3 wywaru . .	3·08	8·45	5·4	100
15 cm^3 „ . .	4	8·9	4·9	90·7
25 cm^3 „ . .	5·8	9·2	3·4	63

Z tablicy XII wynika, że w pożywce bez wywaru azotobakter wiąże 2·45 *mg* azotu, zaś w pożywce z 10 cm^3 wywaru wiąże 5·18 *mg*, czyli przyrost N związanego przez azotobaktera w obecności wyciągu na 1 *gr* cukru wynosi 2·73 *mg*. Stąd wniosek, że wpływ wyciągu jest bardzo znaczny. Działanie wywaru jest jednak nieznaczne w porównaniu z działaniem ziemi.

W poniższem doświadczeniu (tabela XIV) użyto wywar i samą ziemię w tych samych proporcjach, tj. 1 cm^3 wywaru otrzymanego z 1·4 *gr* ziemi. Doświadczenie trwało 14 dni.

Tabela XIV.

Skład pożywki	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg*		
		brutto	netto	w %
1 cm^3 wywaru . .	0·7	3·64	2·9	100
1·4 *gr* ziemi . . .	7·7	13·72	6·02	204·7

Widzimy więc, że różnica jest bardzo wielka; na 1 *gr* cukru trzcinowego azotobakter w obecności ziemi związał o 3·08 *mg* N więcej. Stąd wniosek, że do wywaru nie przeszły z ziemi wszystkie

czynniki, powodujące intensywniejsze wiązanie azotu przez azotobaktera. Czy działanie wyższej temperatury wzmogłoby przejście tych czynnych składników do wywaru? Wygotowano tą samą, jak poprzednio ziemię, czterokrotną dodając ilość wody wodociągowej, lecz miast gotować na wolnym ogniu, gotowano godzinę w autoklawie pod ciśnieniem trzech atmosfer. Doświadczenie trwało 14 dni. Pożywka zwykła.

Tabela XV.

Skład pożywki	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg*		
		brutto	netto	w %
5 cm^3 wywaru . .	1·1	3·2	2·1	100
10 cm^3 „ . .	2	4·9	2·9	138

Doświadczenie to dowodzi, że wysoka temperatura wpływa raczej ujemnie. Wywar pod wpływem wysokiej temperatury uległ zmianie. Czynniki, działające pobudzająco na azotobaktera, straciły na swej mocy. Ilość związanego N wynosiła tutaj tylko połowę na wywarze nieautoklawowanym (por. tabl. XII).

III. Współżycie azotobaktera z innemi bakterjami.

Już Beijerinck zauważył w swoich doświadczeniach, że wielki wpływ na wiązanie azotu przez azotobaktera wywiera obecność innych bakteryj. Przedewszystkiem zwrócono uwagę na pałeczkę, wyizolowaną z kolonij azotobaktera, stale towarzyszącą jemu. Zanim przystąpiono do doświadczeń, starano się określić tę bakterję.

Cechy jej są ujęte w poniższem krótkiem zestawieniu, w porównaniu z cechami najwięcej do niej zbliżonych bakteryj.

	Rozmiar	Ruchliwość	Barwienie	Temperatura	Żelatyna	Pept. Agar.
„Tow.“	Dług. 1·9—2 μ szer. 0·5—0·7 μ	Ruchliwy.	Barwi się dobrze wszystkiemi barwikami. Gram — negatywny.	Rośnie dobrze w temp. pokojowej (16° C.) również przy 46° C. Optimum 37° C.	Wzrost dobry wzdłuż nakłucia. Tworzy dużo gazu już po 24 godz. Żelatyny nie rozrzedza.	Wzrost dość dobry. Pęcherzyki gazu wzdłuż nakłucia w temp. pokoj. po 24 g.
Coli	Dług. 1—2 μ szer. 0·5 μ	Ruchliwy.	Barwi się dobrze. Gram — negatywny.	Rośnie dobrze w temp. pokojowej również przy 46° C. Optimum 37° C.	Wzrost bujny, szybki. Tworzy gaz. Żelatyny nie rozrzedza.	Rośnie dość dobrze. Nieprzeźroczyste. Gazu nie tworzy.
Aërog.	Dług 1—2 μ szer. 0·4—0·6 μ	Nieruchliwy.	Gram — negat. Barwi się dość dobrze.	Rośnie dobrze w temp. pokojowej. Optimum 37° C.	Wzrost bardzo dobry. Gaz. Żelatyny nie rozrzedza.	Rośnie dobrze wzdłuż nakłucia igłą. Gazu nie tworzy.

Rozwój na cukrach.

	Levuloza	Glukoza	Galaktoza	Maltoza	Laktoza	Sakcharoza	Arabinoza	Ksyloza
„Tow."	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+ +	—	+ —
Coli	+	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	—	—
Aërog.	+	+ +	+ +	+	—	+	—	—

Rozwój na alkoholach.

	Mannit	Dulcyt	Sorbit	Gliceryna
„Tow."	+ +	+	—	+
Coli	+ +	+ —	+ —	+
Aërog.	+	+	—	—

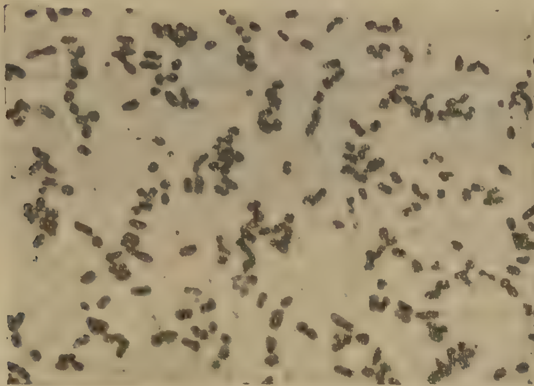
	Kartofel	Jajko	Woda pept.	Mleko
„Tow".	Rozwój dobry. Szaro żółte, groszkowate kolonje, mocno przylegające do podłoża.	Rozwój niezły. Kolonja gładka biała, wzdłuż śladu po igle.	Rozwój bardzo dobry. Kłaczkowaty osad na dnie kolbki.	Rozwój bardzo powolny. Ścina mleko w temp. 22° po długim czasie.
Coli	Rozwój dobry. Szaro bronzowe kolonje często z połyskiem. Po pewnym czasie bronzowieje kartofel dookoła kolonji.		Rozwój dobry. Osad kłaczkowaty. Zapach H_2S.	Koagulacja mleka następuje dość szybko w temp. 37°.
Aërog.	Rozwój dobry. Kolonje szare, groszkowate.		Rozwój dobry. Osad kłaczkowaty.	Ścina mleko w temp. pokojowej

	Eykmann	Voges-Proskauer	Endo	Drigalski
„Tow."	+	—	Kolonje o połysku metalicznym.	Kolonje czerwono zabarwione.
Coli (z jelit ludzkich)	+	—	„	„
Aërog.	+ —	—	Kolonje białe, brak połysku.	Kolonje zabarwione na niebiesko.

	Mc. Conkey	Czerwień metyl.	Amoniak z H_2O pept.	Tworzenie indolu 37° C	temp. 46° C
„Tow."	Silna ferment., czerwone zabarwienie.		+	+ +	+ +
Coli (z jelit ludzkich)	„		+	+	+ +
Aërog.	Fermentacja, czerwone zabarwienie.		+ —	+ +	+ =

Znaczenie znaków: + + Rozwój b. dobry. + Rozwój dobry. + — Rozwój niezły. + = Rozwój słaby. — Niema rozwoju.

Jak widzimy z powyższego zestawienia pałeczka owa należy do bardzo rozpowszechnionej grupy bakteryj *Coli-Aërogenes*. Ryć. 15 podaje jej obraz fotograficzny; hodowla 3-dniowa, gencjana fioletowa.



Ryć. 18 (pow. 1 × 1024).

Zasadniczą i bodajże jedyną cechą różniącą ją od tej grupy jest to, że przy współżyciu z azotobakterem wpływa na zwiększenie wiązania azotu przez azotobaktera. Nie ulega wątpliwości, że „towarzysz" korzysta ze związków azotu, które mu dostarcza azotobakter, sam bowiem azotu nie wiąże. Celem poznania znaczenia „towarzysza" dla azotobaktera wykonano następujące doświadczenia, których rezultaty zestawione są w tab. XVI—XIX. Pożywka zwykła z 1% cukru.

Tabela XVI.

Czas trwania doświad.	Materjał zaszczepiony	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg*			
			brutto	netto	w %	
7 dni	Azotob. chrooc.	0·7	2·66	1·96	100	100
„	Azotob. chrooc. + „Towarzysz"	„	3·22	2·52	128·4	128·4
14 dni	Azotob. chrooc.	„	2·94	2·24	100	—
„	Azotob. chrooc. + „Towarzysz"	„	3·5	2·8	125	142·6
28 dni	Azotob. chrooc.	„	3·5	2·8	100	—
„	Azotob. chrooc. + „Towarzysz"	„	4·06	3·36	120	171·4

W kilkakrotnie powtarzanych doświadczeniach okazało się, że obecność „towarzysza“ w zwykłych pożywkach wpływa pobudzająco na wiązanie azotu przez azotobaktera. Wpływ dodatni „towarzysza“ maleje wraz z wrostem koncentracji cukru (tab. XVII). Doświadczenie to trwało 20 dni.

Tabela XVII.

Ilość użytego cukru	Materjał zaszczepiony	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg*			
			brutto	netto	w %	
1 %	Azotob. chrooc.	0·7	3	3·3	100	100
„	Azotob. chrooc. + „Towarzysz“	„	7	6·3	274	274
2 %	Azotob. chrooc.	0·73	5·46	4·73	100	—
„	Azotob. chrooc. + „Towarzysz“	„	6·9	6·2	131	270
4 %	Azotob. chrooc.	0·8	3·78	2·9	100	—
„	Azotob. chrooc. + „Towarzysz“	„	2·7	1·9	6·55	82·6

W pożywce z 4% cukru trzcinowego obecność „towarzysza“ staje się szkodliwą. Takie same zjawisko daje się zaobserwować w pożywkach z ziemią, gdzie obecność „towarzysza“ wpływa na wiązanie azotu przez azotobaktera również szkodliwie.

Tabela XVIII.

Czas trwania doświad.	Skład pożywki	Materjał zaszczepiony	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg*			
				brutto	netto	w %	
14 dni	1% cukru + 1% ziemi	Azotob. chooc.	8·68	19·6	10·92	100	100
„ „	„ „	Azotob. chooc. + „Towarzysz“	8·68	16·8	8·12	74·36	74·36
28 dni	2% cukru + 2% ziemi	Azotob. chooc.	12·2	35·4	23·2	100	212·4
„ „	„ „	Azotob. chooc. + „Towarzysz“	12·2	34·02	21·8	93·9	200

Zjawisko współżycia „towarzysza“ z azotobakterem jest bardzo ciekawe, szczególnie ze względu na to, że doświadczenia (tab. XIX) które wykonano z kilkoma bakterjami, należącemi do tejże grupy

Coli-Aërogenes, wykazały działanie ich najzupełniej ujemne. Czas trwania doświadczenia 14 dni. Pożywka zwykła z 1% cukru trzcinowego.

Tabela XIX.

Materjał zaszczepiony	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg*		
		brutto	netto	w %
Azotob. chrooc. . . .	0·5	3·5	3·0	100
Azotob. + Towarzysz .	„	4·2	3·7	123·3
Azotob. + Coli *a* . . . (z wody)	„	2·8	2·3	76·6
Azotob. + Coli *b* . . .	„	2·7	2·2	73·3
„ „ *c* . . .	„	2·5	2·0	66·6
Azotob. + Coli *d* . . . (jelita ludzkie)	„	1·96	1·46	48·6
Azotob. + Coli *e* . . .	„	2·2	1·7	56·6
Azotob. + Aërog . . .	„	2·5	2·0	66·6
Azotob. + Mesentericus	„	2·6	2·1	70·0

To samo zjawisko, które widzimy przy współżyciu azotobaktera z „towarzyszem“, daje się zauważyć, gdy azotobakter żyje z bakterjami wiążącemi azot w symbiozie z motylkowemi, jak to wynika z tab. XX. Czas trwania doświadczenia 10 dni. Pożywka z 1% cukru trzcinowego.

Tabela XX.

Materjał zaszczepiony	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg*		
		brutto	netto	w %
Azotob. chrooc. . . .	0·56	3·4	2·8	100
Azotob. chrooc. + Radic. (Lupini)	„	4·6	4·04	144·3
Azotob. + Radic. (Caraganae)	„	4·6	3·5	125
Azotob. chrooc. + Radic. (Trifolii)	„	4·9	4·34	155

Dla uzupełnienia obrazu, wyświetlającego rolę bakteryj współżyjących z azotobakterem, wykonano następujące doświadczenie z jedną bakterją, samodzielnie wiążącą azot. Bakterję tę wyizolowano przypadkowo podczas izolacji azotobaktera. Na szalkach z agarem mannitowym spotykają się bardzo często małe, okrągłe, kropliste,

przeźroczyste kolonje, które trudno odróżnić od agaru. Mikroskopowo są to małe, cieńkie, nieruchliwe pałeczki. Wobec tego, że pałeczki tej nie znano (Beijerinck li tylko wspomina krótko o podobnej, nazywając ją zdegenerowaną formą radiobaktera) i nigdzie nie znaleziono jej opisu, przeto przytoczono w niżej podanej tabelce niektóre z jej cech.

Rozmiar	Barwienie	Ruchliwość	Agar mannit.	Agar pept.	Kartofel
dług. 0·6—0·9 μ szer. 0·1—0·2 μ	Gram negat. Barwi się dobrze wszystkiemi barwikami.	Nieruchliwa.	Rośnie bardzo dobrze. Pas przeźroczysty, z połyskiem o brzegach równych wzdłuż śladu po igle.	Rośnie bardzo dobrze. Pokrywa całą powierzchnię agaru. Brzegi równe. Przeźroczysta.	Wzrost bardzo dobry. Kolonja o powierzchni gładkiej z połyskiem. Szarawo-bronzowa.

Marchew	Mleko	Bób	Seradella	Jajko	Żelatyna
Rośnie bardzo słabo	Peptonizuje po 3-ch dniach.	Rośnie słabo.	Wzrost nieco lepszy niż na bobie.	Rozwój dobry. Kolonja biała z połyskiem.	Rozwój powolny. Nie rozpuszcza. Brzegi nierówne w kształcie lekkiego wyzębienia

H_2O pept.	Cukier mlek.	Glukoza	Sakcharoza	Gliceryna	Mannit.
Zmętnienie. Kożuszek w postaci obłoczka.	Rozwój słaby.	Rozwój słaby. Gazu nie tworzy. Lekki kożuszek.	Rozwój niezły. Zmętnienie. Kłaczki.	Słaby rozwój. Lekki kożuszek.	Rozwój dobry; zmętnienie; kożuch kłaczkowaty.

Wobec tego, że pałeczka ta posiada zdolność pobierania wolnego azotu, czego dowodem jest dobry wzrost na pożywkach bezazotowych, należało przekonać się, jak wpływa, współżyjąc z azotobakterem, na wiązanie azotu przez tego ostatniego.

Pożywkę zwykłą z $^1/_{20}$ mol. cukru trzcinowego zakażano: Doświadczenie trwało 10 dni.

Tabela XXI.

Materjał zaszczepiony	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg*		
		brutto	netto	w %
Azotob. chrooc. . . .	0·65	3·9	2·25	100
Pałeczka (Radiobakter.)	„	2·3	1·65	73·3
Azotob. + Pałeczka Radiobakter.) . . .	„	5·26	4·47	198·6

Z doświadczenia tego można wyciągnąć dwa wnioski: azotobakter chrooc. jest energiczniejszym asymilantem wolnego azotu niż owa pałeczka. Obie bakterje współżyjąc wiążą tyle azotu, jakgdyby każda z nich żyła oddzielnie.

Cały szereg wykonanych doświadczeń z innemi bakterjami współżyjącemi z azotobakterem wykazał, że „towarzysz" należy do tych nielicznych bakteryj, które wzmagają wiązanie azotu przez azotobaktera, podczas kiedy on sam do wiązania azotu nie jest zdolny. Nietylko współżyjąc z „towarzyszem", azotobakter wiąże więcej azotu, ale nawet po dodaniu do pożywki zwykłej przesączu z hodowli „towarzysza"; i wówczas ilość związanego azotu przez azotobaktera wzrasta. Zanim przygotowano pożywkę dla „towarzysza", wypróbowano jakie jest najodpowiedniejsze dlań źródło azotu. Ilość azotu wszędzie była jednakowa $+ H_2O$ wodociągowa $+ 1\%$ sakcharozy.

Źródła N	Rozwój
$(NH_4)_2HPO_4$	Rozwój silny. Kożuch kłaczkowaty. Silne zmętnienie.
$(NH_4)_2SO_4$	Rozwój dobry, słabszy niż w fosf. Kożuch lekki.
$(NH_4)Cl$	Rozwój dość dobry, słabszy niż w SO_4.
NH_4NO_3	Rozwój niezły, słabszy niż w Cl. Ślady osadu.
$NaNO_3$	Rozwój najsłabszy. Lekkie zmętnienie. Barwa żółtawa.
$NaNO_2$	Rozwój lepszy niż w NO_3. Osad kłaczkowaty. Barwa żółtawa.
Woda Pept.	Rozwój b. dobry. Biały, kłaczkowaty osad po 19 godzinach.

Jak widzimy z tej tabeli, najsilniejszy rozwój jest na fosforanie amonu. Odpowiednio do tego przygotowano następującą pożywkę:

400 cm^3 H_2O wodociąg.
4 *gr* cukru trzc.
0·04 *gr* fosforanu amonu.

Zakażono „towarzyszem" z kultury 2-dniowej. Kolby wstawiono do termostatu (28^0 C.) na 3 dni. Po trzech dniach, gdy pożywka silnie zmętniała i pojawiły się pęcherzyki gazu, przesączono przez świecę Chamberland'a. Przesącz dodawano w różnych ilościach do 50 cm^3 pożywki o podwójnej koncentracji, dopełniając wodą wodociągową do 100 cm^3.

Tabela XXII.

Skład pożywki	Materjał zaszczep.	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg*		
			brutto	netto	w %
Bez przesączy	Azotob. chrooc.	0·5	2·5	2·0	100
„ „	Azotob. chrooc. + „Towarzysz“	0·5	3·78	3·28	164
25 cm^3 przesączy	Azotob. chrooc.	0·72	4·76	4·04	202
50 cm^3 „	„ „	0·98	6·58	5·6	280

Jak widzimy z powyższej tabeli, wyciąg w silnym stopniu wzmaga wiązanie azotu przez azotobaktera. Wydaje się to tem dziwniejszem, albowiem azotobakter rozwija się dobrze w środowisku alkalicznem, a „towarzysz“ pożywkę silnie zakwasza.

Pożywkę o składzie: 100 cm^3 wody wodociąg.

0·25 *gr* peptonu
0·1 *gr* K_2HPO_4
0·05 *gr* $MgSO_4$
1 *gr* glukozy

zakażano świeżą kulturą „towarzysza“, umieszczano w termostacie w temp. 37° C. Po czterech dniach, kiedy fermentacja była zakończona, zbadano stężenie wodoro-jonów, które wynosiło: $P_h = 3{\cdot}56$.

Czas trwania doświadczenia — 10 dni. Pożywka z 1% cukru trzcinowego.

Działanie przesączu z hodowli „towarzysza“ jest specyficzne, gdyż przesącze innych bakteryj działania nie wykazują, czego dowodem rezultaty doświadczenia, przedstawionego w tab. XXIII.

Przesącz z hodowli *B. mesentericus.*

Tabela XXIII.

Skład pożywki	Materjał zaszczep.	Ilość N w *mg* w kontroli	Ilość N związanego w *mg*		
			brutto	netto	w %
Bez przesączy	Azotob. chrooc.	0·5	2·5	2·0	100
„ „	Azotob. chrooc. + Mesentericus	0·5	2·38	1·88	94
25 cm^3 przesączy	Azotob. chrooc.	0·63	1·96	0·73	36·5
50 cm^3 „	„ „	0·84	2·8	1·96	98

Zakończenie.

Powyższa praca miała za zadanie wyjaśnienie niektórych spornych spraw w dziedzinie wiązania azotu przez azotobaktera, a przedewszystkiem zagadnienie, które zostało postawione przez samego Beijerincka, odkrywcę azotobaktera: czy azotobakter sam przez się wiąże azot, jak to twierdził w pierwszej swej pracy, czy czyni to tylko w obecności innych bakteryj symbiotycznych, jak sprawę tę rozstrzygnął w drugiej pracy?

Z rezultatów wykonanych doświadczeń wynika, że zdolność wiązania azotu przez samego azotobaktera — w warunkach, w jakich te doświadczenia były przeprowadzone — jest bezsprzeczna, jakkolwiek stopień tej zdolności jest różny i występuje jako cecha rasowa. Jest możliwe, że azotobakter po dłuższej hodowli sztucznej tą specyficzną zdolność zupełnie zatraca; w doświadczeniach tutaj podanych stwierdzić tego jednak nie było można.

Zdolność wiązania azotu przez azotobaktera można jednakże spotęgować przez doszczepienie do hodowli azotobaktera bakterji, która bardzo często „zanieczyszcza" kolonje azotobaktera i z trudem daje się od azotobaktera oddzielić; bakterja ta nie daje się zidentyfikować z Beijerincka *Radiobacterem*, nie jest również identyczną z Heinzego *B. molestus*. Sama przez się niezdolna do wiązania azotu, potęguje zdolność tę azotobaktera przez swą obecność w jego hodowlach, posiada zatem znaczenie symbionta. Inne bakterje, niezdolne do wiązania azotu, tego znaczenia dla azotobaktera zupełnie nie posiadają. Znaczenie to symbionta występuje tylko w pewnych warunkach: przy zwiększonej koncentracji cukru obecność jego staje się raczej szkodliwą dla procesu wiązania azotu. Być może, iż spowodowane to jest zbyt dużą koncentracją wytwarzanego przezeń kwasu, hamującą rozwój azotobaktera. Obecność ziemi próchnicznej lub wywaru z niej w hodowlach azotobaktera, jak to bardzo dokładnie ustalił już S. Krzemieniewski, wzmaga potężnie wiązanie azotu. Wówczas jednak „towarzysz" niema żadnego znaczenia, a raczej obecność jego staje się szkodliwą, ilość bowiem w tych warunkach przez azotobaktera związanego azotu staje się mniejszą, niż w nieobecności „towarzysza". Ciało, działające pobudzająco na azotobaktera, a wytwarzane przez „towarzysza", przechodzi do przesączu, jak wynika z doświadczeń, przeprowadzanych z dodatkiem do hodowli azotobaktera przesączonych przez świecę porcelanową płynów, w których rozwijał się uprzednio „towarzysz". Przesącze te były starannie kontrolowane i nie zawierały komórek bakteryjnych, jak również ho-

dowla azotobaktera na pożywkach z dodatkiem tych przesączy pozostawała zupełnie czystą.

Inna, a dawna już kwestja sporna, tutaj opracowana, odnosi się do wpływu związków azotu na proces wiązania azotu molekularnego. Beijerinck uważał obecność małych dawek związków azotowych za konieczną, Gerlach i Vogel natomiast twierdzili, że wiązanie azotu w pożywkach, zawierających związki azotowe, wogóle nie następuje. Jak wynika wyraźnie z przytoczonych doświadczeń, w których użyto fosforanu amonu w 5 dawkach, od 0·12 *mg* do 12 *mg* N na 100 cm^3 pożywki, hamujący wpływ na wiązanie azotu objawił się już przy najniższej dawce (por. tabl. IX), występując ze zwiększającą się koncentracją coraz silniej; przy dawce 6 *mg* N wiązanie azotu już całkowicie było zahamowane, a przy dawce 12 *mg* nawet rozwój azotobaktera był słabszy, niż w pożywce bezazotowej. Identyczne wyniki dała serja z dodatkiem ziemi kompostowej, zawierającej 0·5% N. Tutaj hamujący wpływ fosforanu amonu wystąpił nawet silniej, niż w doświadczeniu bez dodatku ziemi, gdyż obecność tylko 0·12 *mg* N amonowego w pożywce obniżyła ilość związanego azotu już o połowę. Nie jest coprawda wykluczone, że inne związki azotowe nie wpływają tak ujemnie na azotobaktera, jak użyty w tych doświadczeniach fosforan amonowy, gdyż inaczej azotobakter w ziemiach uprawnych, nawożonych łatwo rozpuszczalnemi związkami azotowemi nie miałby żadnego znaczenia, na co zresztą zwracał uwagę już Dzierzbicki. Kwestja ta wymaga jednakże jeszcze wszechstronniejszego zbadania.

Na zakończenie należy mi jeszcze zaznaczyć, że nigdy w czystych hodowlach w żadnych warunkach, w wielomiesięcznych nieraz hodowlach agarowych ziemnych lub innych nie dało się zauważyć u azotobaktera przetrwalników *(endospor)*, o czem wszak jako pierwsi wspominają Heinze, a po nim Prażmowski. Może zatem tylko pewne rasy azotobaktera wytwarzają przetrwalniki lub zdolność ta występuje tylko w pewnych szczególnych, eksperymentalnie nie opanowanych jeszcze warunkach.

Streszczenie wyników.

1. Z ras, któremi posługiwano się podczas doświadczeń, rasa czerniejąca wiązała w tych samych warunkach więcej azotu, niż biała.

2. W pierwszych dniach wiąże azotobakter więcej azotu, niż w następnych. W pierwszych 7-miu dniach związał na 1 *gr* cukru trzcinowego 1·4 *mg* azotu, a po 28-miu dniach, czyli w czwartym okresie 7-dniowym, tylko 0·1 *mg*.

3. Wyższa koncentracja cukru działa sprzyjająco na wiązanie azotu przez azotobaktera. Najodpowiedniejszą koncentracją jest 2% cukru trzcinowego (w okresie 28-dniowym).

4. Ziemia w znacznym stopniu wpływa na spotęgowanie wiązania azotu przez azotobaktera:

a) w okresie 10-dniowym 3 *gr* ziemi są optymalną ilością.

Wyższe koncentracje działają odwrotnie proporcjonalnie.

b) wywar z ziemi wywiera dodatni wpływ na wiązanie N przez azotobaktera.

Optymalną ilością w okresie 12-dniowym na 100 cm^3 pożywki jest 10 cm^3 wywaru.

c) działanie ziemi próchnicznej *in substantia* znacznie przewyższa działanie wywaru.

d) wywar pod wpływem wysokiej temperatury (145° C) ulega zmianie; czynniki pobudzające zdolność wiązania azotu przez azotobaktera tracą na swej mocy.

5. Początkowe dawki azotu (w postaci fosforanu amonu) dodane czy to do pożywki z ziemią lub bez hamują wiązanie azotu.

Większe dawki w ilości 6 *mg* i 12 *mg* N na 100 cm^3 pożywki paraliżują azotobaktera.

6. Obecność „towarzysza“ w pożywkach zwykłych z azotobakterem wpływa podwyższająco na ilość związanego N przez azotobaktera.

7. Obecność „towarzysza“ w pożywkach z dodatkiem ziemi lub przy wyższej koncentracji cukru wpływa ujemnie na wiązanie N przez azotobaktera.

8. Azotobakter współżyjąc z innemi bakterjami grupy *Coli-Aërogenes* wiąże mniej azotu, niż sam. Natomiast w obecności *Bact. radicicola* wiąże więcej azotu, niż sam.

9. Przesącz bezkomórkowa hodowli „towarzysza“ w silnym stopniu pobudza zdolność do wiązania azotu przez azotobaktera.

10. Także przesącz hodowli *B. mesentericus* działa ujemnie na wiązanie azotu przez azotobaktera.

Praca niniejsza była wykonana w Zakładzie Fizjologji Roślin Uniw. Warszawskiego; kierownikowi Zakładu tego, p. prof. drowi Kazimierzowi Bassalikowi składam i na tem miejscu moje podziękowanie za ofiarną pomoc i wskazówki. Część djagnostyczną, odnoszącą się do porównania „towarzysza“ z radiobakterem i różnemi rasami grupy *Coli-Aërogenes*, wykonałam w zimie 1928/29 w Zakładzie

Mikrobjologicznym w Wageningen. Kierownikowi tegoż Zakładu, panu prof. drowi Söhngenowi składam i na tem miejscu podziękowanie za gościnę i pomoc.

Zakład Fizjologji Roślin Uniw. Warszawskiego.

Literatura.

1. Beijerinck. Centralbl. f. Babt. II. Abt. Bd. 7. (1901).
2. Beijerinck und van Delden. Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 9. (1902).
3. Freudenreich. Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 10. (1903).
4. Gerlach und Vogel. Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 10. (1903).
5. Heinze, B. Centrralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 26. (1910).
6. Koch, A. Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 31. (1911).
7. Krzemieniewska, H. Bulletin de l'Academie des Sciences de Cracovie. (1910).
8. Krzemieniewski, S. Bulletin de l'Academie des Sciences de Cracovie. (1908).
9. Kühn. Frühlingslandwirtschaft. Zeitung. (1901).
10. Löhnis i Pillai. Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 20. (1908).
11. Söhngen. Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. 38. (1913).
12. Stoklasa, J. Centralbl. f. Bakt. II. Abt. 21. (1908).

Résumé.

Dans le présent travail on a étudié l'influence de différents facteurs sur la fixation de l'azote par l'*Azotobacter* et surtout l'action de la symbiose. On a obtenu des résultats suivants:

1. Dans les premiers jours l'*Azotobacter* fixe plus d'azote que dans les jours suivants. Dans les premiers sept jours il a fixé — en cultures absolument pures — pour 1 *gr* de saccharose 1·4 *mg* d'azote et après 28 jours seulement 0·1 *mg*.

2. Une concentration supérieure de saccharose a une influence favorable sur la fixation d'azote. La plus favorable c'est la concentration de 2% de saccharose pour un délai de 28 jours.

3. Pour un délai de dix jours l'addition de 3 grammes de sol à 100 cm^3 de solution nutritive est la quantité la plus favorable. L'augmentation de cette quantité a, au contraire, une influence de plus en plus défavorable. Le sol en substance agit beaucoup plus favorablement que son extrait aqueux.

4. L'azote, en forme de $(NH_4)_2HPO_4$ ajouté, au commencement, au milieu nutritif (avec ou sans sol) empèche la fixation de l'azote.

5. La présence du symbionte de l'*Azotobacter* dans le milieu nutritif simple, ensemble avec l'*Azotobacter*, augmente la quantité d'azote

fixé par celui-ci, mais devient nuisible dans les milieux avec une plus grande concentration de saccharose (4%).

6. Dans un milieu nutritif, dans lequel on a ajouté du sol, la présence du symbionte a une influence négative sur la fixation de l'azote.

7. L'*Azotobacter* en présence des bactéries du groupe *Coli-Aërogenes* (on a étudié 5 races de *Coli, Aërogenes* et *mesentericus)* fixe moins d'azote qu'en étant seul.

8. En présence du *Radicicola* (du *Lupinus*, *Trifolium* et *Caragana)* l'*Azotobacter* fixe plus d'azote qu'en étant seul.

Institut de physiologie végétale de l'univ. de Varsovie.

Dalsze studja nad glutationem. Związek miedziowy utlenionego glutationu drożdży.
(A copper compound of the oxidised glutathione).

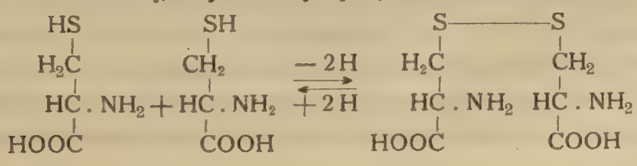
Napisał

ANTONI KOZŁOWSKI

I. Uwagi ogólne.

Cysteina przedstawia związek bardzo zajmujący fizjologa pod wielu względami, przedewszystkiem narzuca mu pytanie, w jaki sposób tlenek siarki, doprowadzony do komórki żywej w postaci soli kwasu siarkowego ($HO . SO_2 . OH$) oraz tlenek azotu, w postaci soli kwasu azotowego ($HO . NO_3$), zostają odtlenione i następnie uwodornione do grupy wodorosiarkowej (sulfhydrylowej, merkaptanowej, -SH) wzgl. do grupy wodoroazotowej (aminowej, $-NH_2$). Przemiana podobna *in vitro* wymaga tak licznych zabiegów chemicznych i tak dużego nakładu energji, że wprawia badacza w zdumienie swym łatwym przebiegiem w organiźmie rośliny.

Prócz powyższego, cysteina nasuwa biologowi jeszcze inne, nie mniej zaciekawiające zagadnienie, mianowicie, jaką rolę może ów aminokwas odgrywać w procesach wymiany atomów wodoru między pewnemi składnikami treści komórki. Wiadomo bowiem, że grupa sulfhydrylowa cysteiny może łatwo w odpowiednich warunkach odczepiać wodór, który następnie zostaje przyłączony do tlenu powietrza, do pewnych związków sztucznie doprowadzonych, lub też do niektórych normalnych składników treści komórki; w procesie takim cysteina przechodzi w odmianę złożoną z dwóch drobin cysteiny odwodornionej, czyli w cystynę:



W organiźmie żywym zachodzi równocześnie reakcja odwrotna, t. j. przyłączanie wodoru przez cystynę, czyli jej przejście w cysteinę; tak więc ów aminokwas może być zarówno dawcą jak też odbiorcą wodoru. Równowaga owej przemiany może być przesunięta w jednym lub drugim kierunku, co zależy od funkcji fizjologicznej danej komórki. Na uwagę zasługują tu spostrzeżenia, według których komórki odznaczające się wzmożoną przemianą materji, jak np. komórki merystematycznych tkanek korzeni i pędów, oraz komórki przerabiające intensywnie glikogen, jak np. komórki rozwijających się drożdży i wielu innych grzybów, komórki mięśni i wątroby, są szczególnie bogate w cysteinę, która nadto przeważa tu ilościowo nad cystyną. W tkankach natomiast rozwiniętych rośliny, gdzie przemiana materji przebiega w znacznie powolniejszem tempie, cystyna przeważa ilościowo nad cysteiną, a zarazem obie znajdują się tam w stosunkowo niedużej ilości. Należy tu też zaznaczyć, że komórki chlorofilonośne są stosunkowo ubogie w ów aminokwas i że zawierają go przeważnie w postaci cystyny; kwestja jednak ta wymaga jeszcze obszerniejszych i ściślejszych badań. Bezpośrednie bowiem mikrochemiczne wykazanie cysteiny przy pomocy reakcji nitroprusydkowej w tkankach zielonych jest utrudnione przez chrorofil; wyizolowanie zaś z nich cystyny nie dowodzi jeszcze, że znajdowała się ona w tkankach żywych jako taka, a nie w postaci cysteiny, która mogła ulec odwodornieniu podczas jej preparowania.

Jakkolwiek nie jest jeszcze zbadanem, które składniki treści komórki biorą udział w przemianie cysteiny na cystynę lub w procesie odwrotnym i jakie przy tem powstają związki pośrednie, nie ulega najmniejszej wątpliwości, że wokół grupy sulfhydrylowej cysteiny koncentruje się bardzo ważny cykl przemiany materji, w który włączone są nietylko procesy odwodornienia i uwodornienia, lecz prawdopodobnie także procesy hydrolizy, jak o tem można wnioskować z prac Grassmanna (1), Krebsa (2) i Waldschmidt-Leitza (3).

Jednym z takich cyklów metabolizmu, w którym siarka organicznie związana odgrywa prawdopodobnie bardzo ważną rolę, jest przeróbka cukrów prowadząca do powstawania alkoholu czyli fermentacja alkoholowa. Badania przeprowadzone w pracowniach Hardena i Eulera wykazały, że koferment zymazy, ko-zymaza, zawiera siarkę; pozostaje jeszcze do zbadania, czy siarka owa należy do cysteiny wzgl. cystyny, czy też do jakiegoś innego związku.

W każdym razie należy tu podkreślić, że komórki zdolne do intensywnej fermentacji alkoholowej, jak np. komórki drożdży i nasion wielu gatunków roślin, odznaczają się dużą zawartością cysteiny; co więcej, ekstrakt z takich organizmów traci własności ko-zymazy, jeśli cysteina zostanie w nim rozłożona przez silniejsze ogrzewanie. Możliwe jest, że cysteina odgrywa tu rolę ko-zymazy i że cystyna, obok innych, służy tu jako akceptor wodoru, który — zdaniem Kluyvera i Struyka (4) — jest jednym z niezbędnych czynników w procesie owej fermentacji. Jeśliby owo przypuszczenie okazało się w przyszłości uzasadnione, pociągnie ono za sobą dalszy wniosek, wyjaśniający mechanizm tego procesu, a mianowicie, że cysteina, w roli ko-zymazy, bierze udział w reakcjach dysmutacyjnych; Euler bowiem i Myrbäck (5) wykazali, że ko-zymaza jest identyczną z ko-mutazą.

Na szczególną uwagę zasługuje tutaj fakt, że cysteina zawarta w drożdżach, odznacza się dużą nietrwałością w przeciwstawieniu do cysteiny powszechnie znanej (sporządzanej przez uwodornienie cystyny otrzymywanej z włosów lub rogów zwierzęcych rozkładanych silnym kwasem mineralnym, 25% HCl). Jakto już na innem miejscu (6) zaznaczono, cysteina drożdży odczepia siarkowodór już w chwili zabicia komórki. Podczas gdy zwykła cysteina wzgl. cystyna wydziela SH_2 dopiero przy reakcji silnie alkalicznej i to w temperaturze podwyższonej, cysteina w ekstrakcie z drożdży traci grupę -SH już w temperaturze pokojowej, przy reakcji wyraźnie kwaśnej (koncentracja jonów wodorowych w soku komórkowym drożdży jest w pobliżu pH = 5·6).

Wszelkie usiłowania podjęte przez autora, w celu zapobieżenia temu rozkładowi środkami chemicznemi spełzły na niczem. Między wielu substancjami badał autor także wpływ siarki pierwiastkowej. Jak wiadomo, siarka sproszkowana, dodana do roztartych tkanek powoduje w wielu przypadkach intensywne wydzielanie siarkowodoru. De Ray-Pailhade (7) tłumaczy to obecnością labilnego czyli aktywnego atomu wodoru w grupie sulfhydrylowej (w związku nazwanym przez niego filotionem), który może być przyłączany do siarki, dając w ten sposób siarkowodór:

$$2\,R.SH + S = R.S.S.R + SH_2$$

Nie miejsce tu rozpatrywać, czy rzeczywiście taka reakcja w owym przypadku zachodzi; w każdym razie należy tu podkreślić, że siarkowodór, wydzielany z drożdży zadanych siarką, nie pochodzi z uwo-

dornienia tej ostatniej, lecz z rozkładu cysteiny drożdży. Siarka, dodana do wodnej suspenzji drożdży, da się z powrotem odzyskać ilościowo; jeśli jednak takie drożdże, poddane działaniu siarki na przeciąg kilkunastu godzin lub kilku dni, wyciągniemy następnie rozcieńczonym acetonem, ekstrakt zawierać będzie tylko drobne ilości cysteiny wzgl. cystyny lub glutationu w porównaniu do grupy kontrolnej. Wobec tego zaleconą jest duża ostrożność w interpretacji zjawiska opisanego przez de Ray-Pailhadego.

Owa nietrwałość cysteiny w drożdżach może być tłumaczona w sposób trojaki, a mianowicie: 1) specyficzną strukturą chemiczną t. j. nietrwałem wiązaniem grupy siarkowodorowej w drobinie owego aminokwasu zawartego w drożdżach; 2) wpływem wiązania, prawdopodobnie peptydowego, cysteiny w glutationie; 3) sąsiedztwem pewnych związków w ekstrakcie, które łatwo atakują grupę -SH cysteiny. Narazie trudno jeszcze orzec, który z tych czynników gra główną rolę. Znanem jest, że cystyna może istnieć w wielu odmianach różniących się postacią kryształów, rozpuszczalnością i trwałością; na nietrwałość pewnej odmiany cystyny zwrócił pierwszy uwagę Gabriel (8), według którego izo-cystyna odczepia siarkę nawet w roztworze kwaśnym ogrzewanym w obecności siarczanu miedzi. Zauważono też wielokrotnie, że cysteina związana peptydowo staje się skłonną do odczepiania -SH. Cysteina glutationu drożdży, poddana uprzednio odwodornieniu na cystynę, a następnie ogrzewana z 25% kwasem solnym lub siarkowym, ulega częściowo rozkładowi z wydzieleniem siarki bezpostaciowej, a częściowo przemianie na sól cystyny trwałej. Wpływ innych substancyj da się zauważyć choćby już w tem, że w acetonowym ekstrakcie z drożdży cysteina ulega niemal zupełnemu rozkładowi w ciągu 24 godzin przy $+4^0$, podczas gdy oczyszczony preparat cysteiny wzgl. glutationu w podobnych warunkach wydziela siarkowodór znacznie powolniej, a jeszcze słabiej po odwodornieniu.

Bądź co bądź, nietrwałość cysteiny drożdży powinna być uwzględniona nietylko w preparatyce i w doświadczeniach fizjologicznych, lecz także przy określaniu struktury chemicznej glutationu i związków jemu podobnych.

Struktura chemiczna glutationu drożdży wymaga jeszcze dalszych ściślejszych dat analitycznych. Substancja ta, zawierająca około 10·5% siarki i 13·5% azotu, została początkowo określona przez Hopkinsa (9) jako dwupeptyd, złożony z cysteiny i kwasu glutaminowego; później jednak Hopkins (10) i niezależnie od niego Kendall (11) doszli do wniosku, że glutation drożdży jest dość nie-

trwałym (12) trójpeptydem złożonym z cysteiny, kwasu glutaminowego i glikokolu. Wobec jednak owej nietrwałości glutationu, oraz ze względu na to, że indentyfikacja jego składników z wyjątkiem cysteiny nie została jeszcze poparta przez wyczerpującą analizę elementarną, wyjaśnienie budowy chemicznej glutationu pozostaje nadal pod znakiem zapytania. Nie jest bowiem wykluczonem, że preparat glutationu drożdży i substancyj podobnych, wyizolowanych z innych organizmów, może zawierać także pochodne cysteiny, od której została odczepiona grupa sulfhydrylowa. Że taka wtórna zmiana peptydu jest możliwa, o tem świadczy praca Bergmana i Stathera (13), w której przeprowadzono przemianę dwualanilocystyny w krystaliczną pochodną, wolną od siarki. Również Brand i Sandberg (14) zwrócili uwagę, że odczepienie grupy wodosiarkowej może spowodować zmianę w własnościach glutationu lub związków jemu podobnych.

Z uwzględnieniem trudności napotykanych przy badaniu glutationu autor podjął się sporządzenia związku miedziowego, który może ułatwi dalsze dotyczące studja.

II. Związek miedziowy glutationu odwodornionego.

Glutation uwodorniony, wykrystalizowany z mieszaniny alkoholu i eteru (6), w ilości około 0·9 *gm* z 1 *kg* świeżych prasowanych drożdży piekarskich, wykazuje pod mikroskopem duże kryształy pryzmatyczne zebrane w rozetki, oraz mniejsze, igiełkowate, skupione w druzy; obok tych daje się zauważyć drobna ilość substancji żółtawej, żywicowatej, która nie da się oddzielić przez dalsze przekrystalizowanie lub przez ponowne przeprowadzenie preparatu przez związek miedziowy; możliwe, że owo zanieczyszczenie bezpostaciowe powstaje na nowo wskutek częściowego rozkładu glutationu.

Preparat taki zawierał: 39·89% C, 5·80% H, 13·86% N (Dumas) i 9·5% S. (Nadtlenek sodu, benzydyna).

Sposób sporządzenia miedziowego związku glutationu uwodornionego, opisany przez Hopkinsa (10) nie wyklucza możliwości zanieczyszczenia takiego preparatu śladami tlenku metalu, który niełatwo da się wypłukać rozcieńczonym kwasem siarkowym z mikroskopijnie ziarnistego i łatwo zbijającego się osadu. Trudność tę można uniknąć przez sporządzenie podobnego związku z glutationu odwodornionego. Metoda w tym celu stosowana jest bardzo łatwą i umożliwia uprzednie oczyszczenie glutationu przez użycie octanu ołowiu, który łatwo strąca glutation uwodorniony, nieznacznie natomiast

glutation odwodorniony, z tego zaś ostatniego usuwa pewne zanieczyszczenia. Nadmiar tlenku miedziawego nie powoduje, w przeciwstawieniu do glutationu uwodornionego, rozpuszczania się kompleksu miedziowego glutationu odwodornionego i da się łatwo oddzielić przez filtrowanie. Przebieg pracy może być przedstawiony na następującym przykładzie:

75 *gm* glutationu uwodornionego rozpuszczono w 300 cm^3 wody, zobojętniono kwaśnym węglanem potasu, zadano kroplą 0·1% chlorku żelaza i mieszano prądem powietrza, dopóki wszystka cysteina nie została odwodorniona na cystynę, t. j. dopóki nie znikła goździkowa barwa wywołana chlorkiem żelaza, a reakcja nitroprusydkowa na cysteinę stała się negatywną. Płyn żółto zabarwiony zakwaszono słabo kwasem octowym i zadano kilku kroplami 10% roztworu obojętnego octanu ołowiu. Powstały osad odfiltrowano; bezbarwny filtrat, zadawany dalej octanem ołowiu, dawał najpierw osad nanowo się rozpuszczający, a wkońcu wytworzył trwałą mleczną suspenzję: podczas potrząsania płynu przylepiał się do ściany kolby żywicowy osad. suspenzję ową pozostawiono przez noc w temperaturze + 1°. Płyn lekko mętny odlano; osad rozłożono dostateczną ilością 3% kwasu siarkowego; filtrat po siarczanie ołowiu dał silną reakcję nitroprusydkową w obecności cyanku potasu; frakcję tę przerobiono osobno na związek miedziowy.

Płyn, oddzielony od owego żywicowatego osadu, przefiltrowano; filtrat uwolniono od ołowiu rozcieńczonym kwasem siarkowym i zadano tym ostatnim do ilości około 25%, poczem dodawano po kropli suspenzji wodnej tlenku miedziawego, sporządzonego z odczynnika Fehlinga. W miarę rozpuszczania się tlenku płyn zabarwiał się cytrynowo żółto, zielono, a wkońcu zmętniał od nadmiaru zbrunatniałego tlenku metalu. Zawiesinę taką potrząsano przez kilka minut i pozostawiono w spokoju; przefiltrowano ją natychmiast, skoro tylko zaczął się pojawiać na powierzchni płynu biały nalot, pełzający na ścianę kolby. Filtrat przejrzysty, żółto-zielono zabarwiony, mieszano prądem powietrza; stopniowo wytwarzał się coraz to obfitszy biały osad. Suspenzję taką zostawiono przez noc przy + 1°; osad biały odcentryfugowano, zawieszono w 2 *l* wody, ponownie odcentryfugowano, przepłukiwano wodą, aż przepłuczyny przybrały reakcję obojętną; poczem przepłukiwano go kolejno acetonem rozcieńczonym, absolutnym i suchym eterem, świeżo przedestylowanym z nad wodorotlenku potasu; wkońcu suszono go w obecności pięciotlenku fosforu w eksykatorze wypróżnionym pompą olejowo-rtęciową. W ten spo-

sób otrzymano około 6·5 *gm* białego, bezpostaciowego proszku o ledwie uchwytnym odcieniu niebieskawym.

Związek ten trudno rozpuszcza się w 5%, nieco łatwiej w 10% i 20% kwasie siarkowym, bardzo zaś łatwo w rozcieńczonym kwasie solnym; jeśli do wodnej suspenzji tej substancji dodawano po kropli 1% kwasu solnego, powstał bezbarwny, przeźroczysty roztwór, z którego wypadł z powrotem, podczas zobojętniania kwaśnym węglanem potasu, biały osad; podobny roztwór w 10—20% kwasie solnym przybiera wkrótce barwę żółtą i zieloną. Ledwie uchwytna ilość owego proszku rozpuszczona w kropli roztworu cyanku potasu daje intensywną barwę purpurową po dodaniu nitroprusydku sodu.

Substancja ta wolna była od kwasu siarkowego; zawartość miedzi owego kompleksu wynosiła 16·45% Cu; po odliczeniu Cu substancja organiczna zawierała 10·24% siarki i 13·20% azotu (S oznaczono metodą Cariusa, azot zaś metodą Kjeldahla).

Podobny kompleks otrzymany z frakcji wytrąconej octanem ołowiu, w sposób wyżej opisany, zawierał tylko 7·55% siarki po odliczeniu miedzi.

Bardzo pilną uwagę należy zwrócić na zupełne usunięcie kwasu siarkowego z kompleksu miedziowego; jest to praca dość mozolna, gdyż ślady tego kwasu tkwią uporczywie w owej substancji; odnosi się przytem wrażenie, że kwas siarkowy jest luźno związany z kompleksem miedziowym i powoli zostaje odczepiany pod działaniem wody. W razie niestarannego usunięcia choćby śladów kwasu, nastąpi jego zagęszczenie podczas suszenia preparatu, co pociągnie za sobą rozkład substancji. W celu zbadania, czy preparat wolny był od kwasu siarkowego, należy przeprowadzić następującą próbę: roztwór około 0·15 *gm* substancji w 20 cm^3 20% kwasu solnego odparować na kąpieli parowej; pozostałość brunatną zadać 10 cm^3 wody; jeśli płyn wykaże zmętnienie, należy go podobnie zadać kwasem solnym i odparować; jeśli zaś jest przeźroczysty, należy go zadać około 100 cm^3 wody, ogrzać do wrzenia i zadać 10 cm^3 10% roztworu chlorku baru; po dwudziestu minutach wrzenia, pozostawić płyn w temperaturze pokojowej przez kilka godzin; w razie zanieczyszczenia kwasem siarkowym, opadnie siarczan baru.

O ile nie zamierzano otrzymać krystalicznego preparatu glutationu uwodornionego, sporządzenie kompleksu miedziowego glutationu odwodornionego przeprowadzono w sposób następujący: ekstrakt z drożdży, otrzymany rozcieńczonym acetonem, strącono octanem ołowiu; osad rozłożono 3% kwasem siarkowym; filtrat po siarczanie ołowiu zadano rozcieńczonym kwasem siarkowym do 2·5%

i strącono tlenkiem miedziawym; jedwabisto połyskujący związek miedziawy przepłukano wodą i rozłożono siarkowodorem. Filtrat po siarczku miedzi uwolniono od siarkowodoru prądem powietrza, zobojętniono kwaśnym węglanem potasu, mieszano prądem powietrza aż do zupełnego odwodornienia cysteiny, zadano rozcieńczonym kwasem siarkowym do 2·5% i strącono tlenkiem miedziawym w sposób wyżej opisany.

Praca może być jeszcze bardziej uproszczona, jeśli acetonowy ekstrakt z drożdży strącimy wprost tlenkiem miedziawym, jak to już dawniej opisano (6).

Summary.

A solution of the oxidised glutathione, containing about 2·5% sulphuric acid, was treated with cuprous oxide (Cu_2O); a slight excess of this latter was filtered off; the yellow green filtrate was aerated and left in the coldroom for several hours. A white precipitate was centrifugalized, washed with water, acetone and ether, and dried over phosphorpentoxide in a vacuum desiccator. Yield: about 1 *gm* per 1 *gm* of the glutatione.

The copper compound contained 16·45% Cu, and, on subtracting Cu, 10·24% sulphur and 13·2% nitrogen.

The substance was very readily soluble in 1% hydrochloric acid and in a solution of potassium cyanide.

Literatura.

1. Grassmann, W., Dyckerhoff und v. Schoenbeck, O. Ztschr. physiol. Chem. 1930, **186**, 183.
2. Krebs, A. Biochem. 1930. **220**, 289.
3. Waldschmidt-Leitz. Naturwiss. 1930, 644 i 952.
4. Kluyver, A. J. und Struyk, A. P. Biochem. Ztsch. 1928, **201**, 212.
5. Euler, v. H., und Myrbäck, K. Ztschr. physiol. Chem. 1928, **178**, 237.
6. Kozłowski, A. Acta Soc. Bot. Poloniae. 1930. **7**, 87.
7. de Ray-Pailhade. Bull. Soc. Chim. Biol. 1929, **11**, 308 i 1143.
8. Gabriel, S. Ber. Chem. Ges. 1905, **38**, 630.
9. Hopkins, F. G. Biochem. J. 1921, **15**, 287.
10. Hopkins, F. G. J. Biol. Chem. 1929, **84**, 269.
11. Kendall, E. C., McKenzie and H. L. Mason, J. Biol. Chem. 1929, **84**, 657 i 1930, **88**, 409.
12. Mason, H. L. J. Biol. Chem. 1931, **90**, 25.
13. Bergmann M. und Stather. Ztschr. physiol. Chem. 1926, **152**, 189.
14. Bergmann, M. und Brand, E. Ber. Chem. Ges. 1926, **56**, 1280.
15. Brand, E. and Sandberg, M. J. Biol. Chem. 1926, **70**, 381.

Uproszczona metoda wyizolowania t. zw. glutationu z nasion grochu (*Pisum sativum*).

(A simplified method for the isolation of the so called glutathione from the pea (*Pisum sativum*).

Napisał

ANTONI KOZŁOWSKI.

Zastosowanie rozcieńczonego acetonu do wyciągania glutationu z drożdży (1) zapewniło tak dużą ekonomję pracy, materjału i czasu, że ponętnem stało się wypróbowanie owej metody w wyizolowaniu podobnej substancji, zawartej w nasionach grochu. Usiłowania, w tym celu podjęte w 1926 roku (2), napotkały na duże trudności wskutek stosowania kwasu fosforowolframowego, który strąca nietylko zanieczyszczenia, lecz także cystynę i którego usunięcie z roztworu wymaga użycia wodorotlenku baru, rozkładającego dość łatwo cysteinę; prócz tego, wyciąganie gorącą wodą pociąga za sobą nietylko rozkład cysteiny, lecz także wprowadza nadmiar zanieczyszczeń, utrudniających pracę.

Rozcieńczony aceton, rozpuszczając tłuszcze i fosfatydy, ułatwia dyfuzję licznych związków nazewnątrz komórki, dzięki czemu uprzednie rozdrabnianie tkanki i używanie wyższej temperatury jest zbyteczne. Materjał roślinny suchy powinien być poddany uprzednio pęcznieniu w wodzie; w każdym przypadku należy uwzględnić zawartość wody w tkance i ilość wody dodanej. Zależnie bowiem od stopnia rozcieńczenia acetonu, skład ekstraktu będzie rozmaity; 40% aceton przeprowadza w ekstrakt tłuszcze, fosfatydy, monosacharydy, sole kwasów organicznych i mineralnych, aminokwasy, pewne barwiki, białka etc. Roztwory takie jednych związków służą równocześnie za rozpuszczalniki dla innych składników treści komórki, które same przez się są trudno rozpuszczalne w czystym acetonie wzgl. w czystej wodzie.

Dla wyciągnięcia cysteiny z nasion grochu użyto acetonu w takiej ilości, by jego zawartość w ekstrakcie nie przekraczała 40%. Metoda stosowana przy drożdżach uległa tu pewnej modyfikacji; dla strącenia bowiem cysteiny grochu zapomocą tlenku miedziawego okazało się niezbędnem uprzednie usunięcie pewnych zanieczyszczeń, które utrudniały strącenie pożądanego związku; w tym celu użyto octanu ołowiu dla strącenia cysteiny z ekstraktu acetonowego, jak i następnie dla usunięcia niektórych zanieczyszczeń z roztworu cystyny. (Możliwe, że zastosowanie siarczanu rtęci do strącenia ekstraktu uprościłoby pracę).

Preparat glutationu otrzymanego z grochu jest pod względem chemicznym nieco odmiennym od tegoż z drożdży. Problem jednak ten wymaga jeszcze dalszych badań. Autor, będąc zmuszonym do przerwania dotyczących studjów, podaje tu tylko metodę, która może okazać się pożyteczną w ręku biologa, interesującego się daną kwestją.

Przebieg pracy:

2·5 *kg* dojrzałych nasion grochu polnego zadano 4 *l* wody i pozostawiono w temperaturze pokojowej przez 24 godzin. Następnie dodano mieszaniny złożonej z 2·5 *l* acetonu i 1 *l* wody; materjał mieszano kilkakrotnie w ciągu 12 godzin; brunatny ekstrakt strącono 15% roztworem obojętnego octanu ołowiu (około 120 cm^2). Osad odcentryfugowano, przepłukano 50% acetonem na filtrze Buchnera i rozłożono 5% kwasem siarkowym. Filtrat po siarczanie ołowiu uwolniono od kwasu siarkowego węglanem baru, zobojętniono kwaśnym węglanem potasu i mieszano prądem powietrza, aż do zupełnego odwodornienia cysteiny. Płyn ten strącono octanem ołowiu; osad odcentryfugowano; płyn z nad osadu uwolniono od ołowiu rozcieńczonym kwasem siarkowym; dodano tego ostatniego do ilości jego w płynie około 25%. W miarę następnego dodawania tlenku miedziawego występowała coraz to silniejsza barwa żółto-zielona; płyn taki potrząsano przez kilka minut i pozostawiono w spokoju; skoro tylko pojawił się na powierzchni płynu biały nalot pełzający na ścianę kolby, odfiltrowano nadmiar zbrunatniałego tlenku metalu; filtrat mieszano prądem powietrza, aż do wytworzenia się białego osadu i pozostawiono w temperaturze niskiej na przeciąg kilkunastu godzin. Wytworzony osad odwirowano, przepłukano wodą do reakcji obojętnej i rozłożono siarkowodorem. Filtrat po siarczku miedzi uwolniono od siarkowodoru prądem powietrza, zobojętniono kwaśnym węglanem potasu i mieszano prądem powietrza aż do zupełnego od-

wodornienia cysteiny, poczem wpuszczano go kroplami do zimnej mieszaniny alkoholu i eteru; z czasem wytworzył się biały, ziarnisty osad.

Tak otrzymana substancja, w ilości około 0·1 *gm*, ma liczne cechy odwornionego glutationu drożdży; w odróżnieniu od tego ostatniego, odczepia łatwo cystynę pod działaniem bakterji lub rozcieńczonego kwasu solnego.

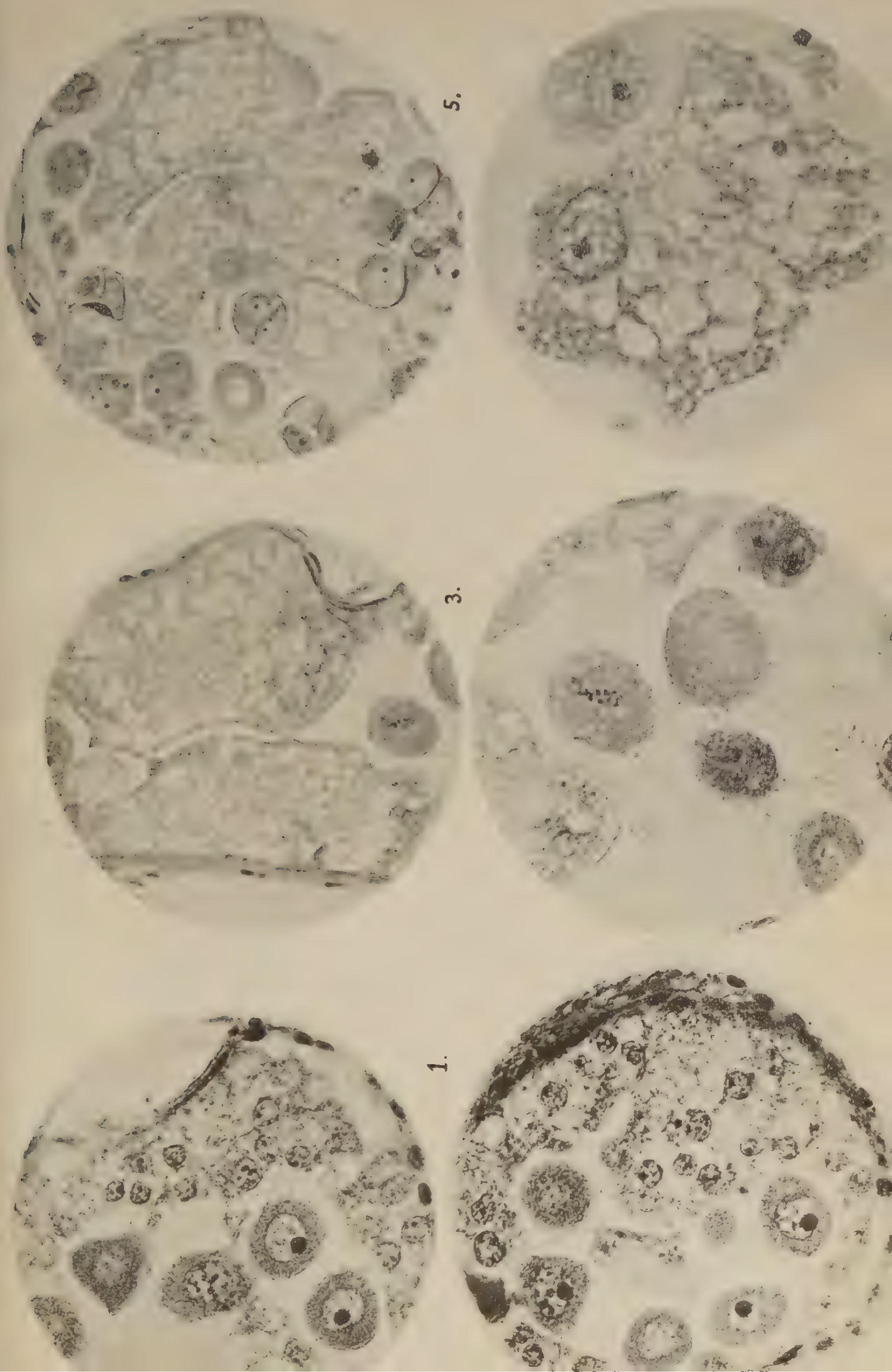
Summary.

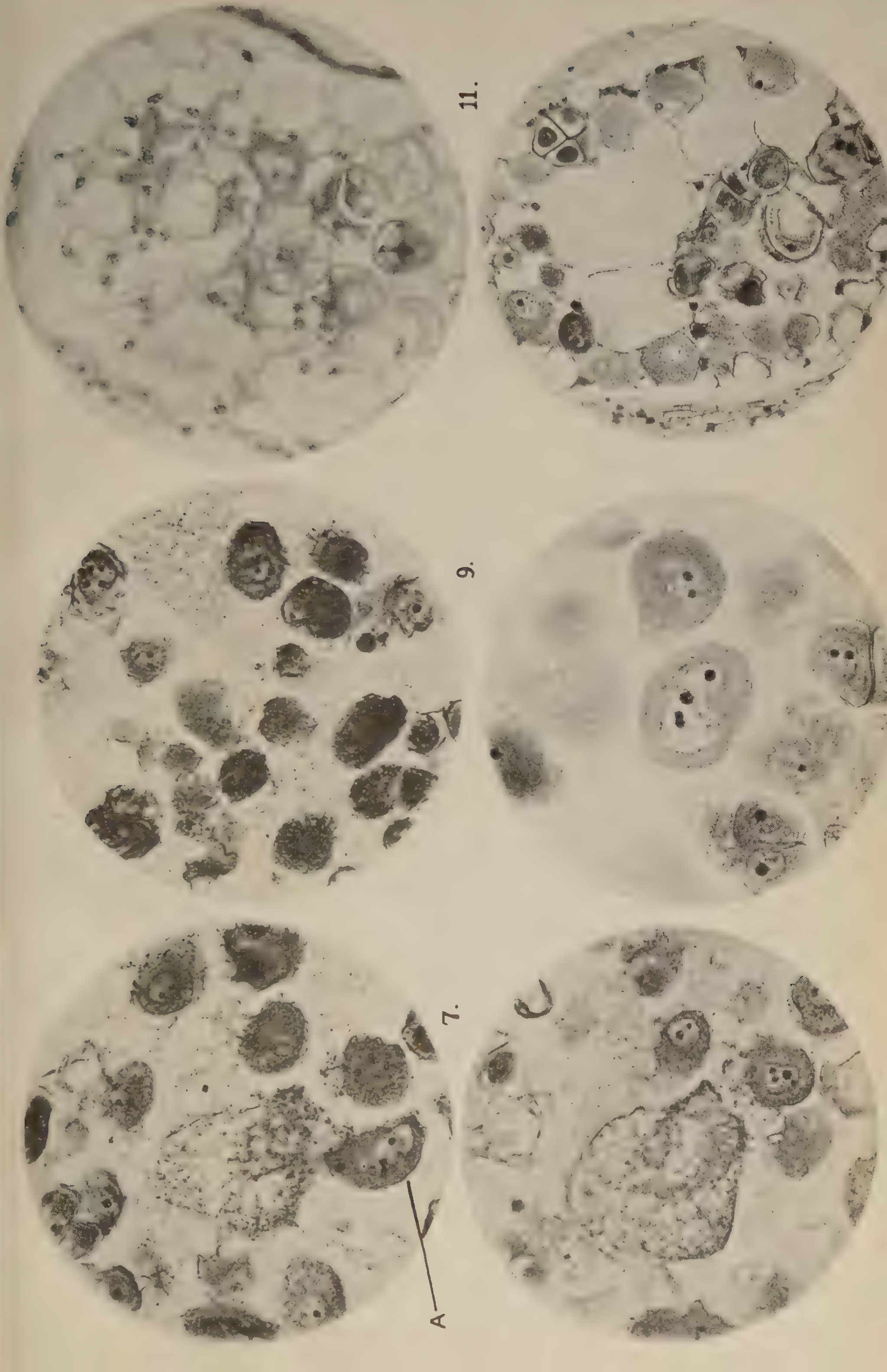
2·5 *kg* of peas were soaked in 4 *l* of water for 24 hours, and afterwards treated with a mixture of 2·5 *l* of acetone and of 1 *l* of water for 12 hours; the extract was precipitated with lead acetate; the precipitate was decomposed by sulphuric acid; the filtrate was neutralised and aerated until all cysteine was oxidised; the impurites were precipitated by lead acetate, and separated by centrifuging. The supernatant liquid was freed from lead by sulphuric acid, and treated with cuprous oxide. An excess of this latter was filtered off; the filtrate was aerated and kept in the cold room for several hours. The white precipitate was centrifugend off and decomposed by sulphurhydrogen; the solution, freed from sulphurhydrogen, was neutralised, aerated and poured into a mixture of alcohol and ether.

Thus a granular substance was obtained that showed some properties of the glutathione of yeast.

Literatura.

1. Kozłowski, A. Acta Soc. Bot. Poloniae, 1930, 7, 87.
2. Kozłowski, A. Biochem. J., 1926, **20**, 1346.


5.
3.
1.


11.
9.
7.
A

Acta Societatis Botanicorum Poloniae
Vol. VIII, Nr. 3/4, 1931.

O procesie kiełkowania nasion i o charakterze wyrodnienia zalążków u *Haemanthus Katharinae*.

(Über den Keimungsprozess der Samen und den Degenerationscharakter der Samenanlagen bei *Haemanthus Katharinae)*.

Napisał

Z. WÓYCICKI.

(Tablice III—IV).

(Wpłynęło do redakcji 20. IV. 1931).

Kiedy w roku 1900 Fr. Hildebrand zamierzał zająć się bliżej całym rodzajem *Haemanthus* w celu opracowania go tak, jak to zrobił w swoim czasie z rodzajem *Cyclamen*, stwierdził przedewszystkiem, że są to rośliny niezmiernie z wielu względów ciekawe i ze wszech miar zasługujące na bliższą uwagę.

„Nachdem ich — pisze Hildebrand — die ganze Gattung *Haemanthus* als eine sehr interessante erkannt hatte, fasste ich zwar den Plan, die meisten Glieder derselben, lebend [1]) mir zu näheren Beobachtungen zu verschaffen“ [2]).

Planu tego jednakże nie wykonał, gdyż stanęła temu na przeszkodzie z jednej strony ta okoliczność, że autor przekonał się wkrótce, iż niezmiernie trudno byłoby zdobyć wszystkie gatunki w stanie żywym [3]), z drugiej zaś — ten fakt: „...dass namentlich durch die verschiedenen *Haemanthus*-Bastarde, welche in den Gärten neuerdings mit und ohne Absicht gezogen wurden, eine grosse Unsicherkeit in Bezug auf die Reinheit der einzelnen, von den Gärtnereien bezogenen Exemplare herscht“... [4]).

Ograniczył się przeto autor tylko do bliższej analizy *Haemanthus tigrinus* i doszedł do przekonania, że roślina rzeczona bardzo

[1]) Kursyw mój.
[2]) L. c., p. 373.
[3]) L. c., 373.
[4]) L. c., p. 373.

oryginalnie zachowuje się pod względem kiełkowania, mianowicie: skoro nasienie uwolni się z miękiszu owocu, zaczyna ono kiełkować bez posiania w ziemię, a nawet „...bei trockenem Aufbewahren“ [1]). W przeciwnym razie, jeśli nasienie nie zostanie wyswobodzone z jagody, kiełkowanie całkowicie ustaje. Takie zachowanie się nasion zniewoliło autora do wielokrotnych eksperymentów i doprowadziły go do wniosku, że nasiona *H. tigrinus* mogą kiełkować wyłącznie poza obrębem owocu i że pochodzi to stąd „...dass durch die Beerenhaut keine Luft zu ihnen gelangen kann, welche notwendige Bedingung zur ihrer Keimung ist“ [2]). Rozmnażanie przeto *H. tigrinus* w terenie Hildebrand wyobraża sobie w ten sposób, że: „Hier werden die Beeren... bei ihrer Reife nicht lange unversehrt bleiben, die Vögel werden sie zum Verspeisen in ihren Schnabel nehmen, wobei dann,... die Samen befreit und weit fortgeschleudert werden“ [3]). Nieco inaczej zachowuje się *H. Katharinae* w warunkach hodowli w szklarniach o temperaturze + 12—16°. Roślina ta, zakwitając zwykle w końcu czerwca, lipcu lub nawet w sierpniu, wydaje dojrzałe czerwonego koloru owoce w grudniu lub początkach stycznia. Zanim jednak przejdę do właściwego tematu niniejszego komunikatu, chciałbym poruszyć sprawy związane z rozwojem woreczka zalążkowego, zarodka i bielma.

* * *

Jak już podałem w pracy mej z roku 1929, drukowanej w tomie VI Acta Soc. Bot. Poloniae, normalny i gotowy do zapłodnienia woreczek zalążkowy posiada doskonale wykształcony pełny aparat jajowy, złożony z jaja i dwóch synergid; antypod jest 3 i wszystkie leżą w jednej płaszczyźnie, opierając się na resztkach t. zw. postamentu. Tuż nad antypodami spoczywa jądro biegunowe, pogrążone w plazmie, obfitującej w liczne, czerniejące od kwasu osmowego kropelki tłuszczu, a nieco wyżej w strumieniu plazmy, idącej od aparatu jajowego do aparatu antypodalnego tkwi jądro biegunowe górne. Tak zbudowany woreczek zalążkowy w mikropylarnej okolicy pokryty jest jedną już tylko warstwą komórek ośrodka, którego tkanka w tym czasie w obrębie antypod szybkiej ulega degeneracji (por. ryc. 23 z r. 1929).

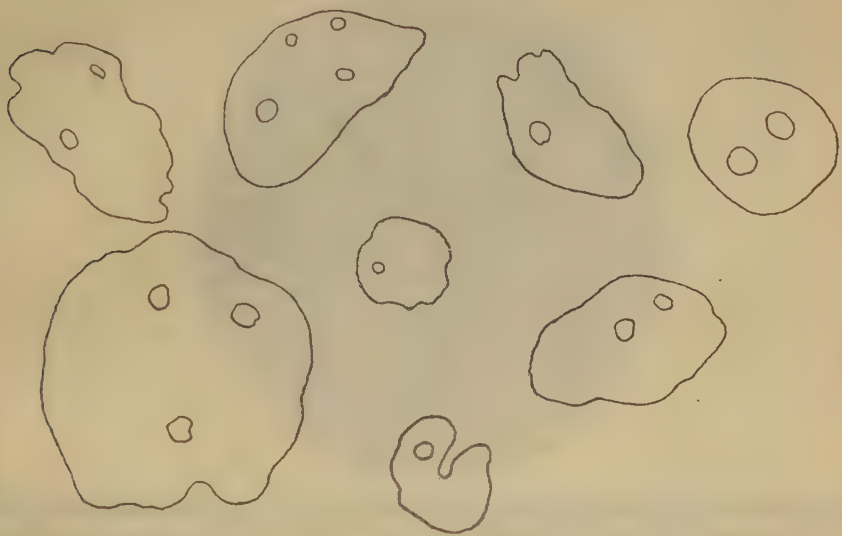
Z zapłodnionego jaja powstaje zarodek, który w okresie różnicowania się peryblemu i pleromu ma zarysy kuliste i spoczywa na

[1]) L. c., p. 378.
[2]) L. c., p. 378—379.
[3]) L. c., p. 378.

słabo bardzo wykształconym wieszadełku [1]). Na terenie komórki, położonej pomiędzy aparatem jajowym i antypodami, tworzy się początkowo bielmo jądrowe, w którem jądra, oglądane na materjale świeżym, mają bardzo różną wielkość i różne zarysy (Ryc. 18).

Na materjale utrwalonym i barwionym metodą Bellinga (1926) różnice te występują również wyraźnie (Ryc. 19); co więcej, widać tu i fazy kopulacji jąder [znane od czasu prac Strasburgera (1880) i Tischlera (1900) nad *Corydalis*] [2]), tłumaczące nam w dostatecznej mierze takie anafazy, jakie mamy na ryc. 20.

W sześć do ośmiu tygodni po okwitnięciu w woreczkach zalążkowych mamy już wykształconą masywną tkankę bielma komórko-



Ryc. 18. Zarysy i wielkość jąder w bielmie jądrowem u *H. Katharinae*. × 450.

wego. Wyjątkowo spotykają się zalążki, w których centralna część woreczka jest jeszcze wypełniona płynną masą energid wolnych, nieobłonionych. Zasiąg skrobi i wielkość jej ziarn w takiem bielmie, które już szczelnie otacza zarodek, wykazuje na wyraźną zależność, istniejącą pomiędzy bielmem z jednej strony, a okrywami i zalążkiem — z drugiej. Brzeg bowiem bielma zarówno jak i wewnętrzna jego okolica, pozostająca w styczności z zarodkiem, rozporządza drobnemi i nielicznemi ziarnami, podczas gdy centralne mniej więcej

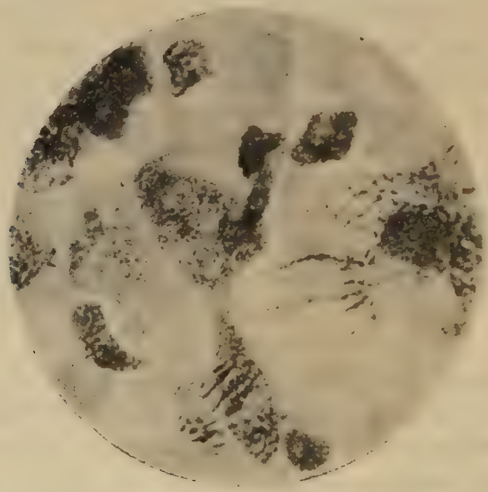
[1]) Według A. Stenara (1925): „Ein Supensor war nicht zu bemerken". L. c., p. 83.

[2]) Porównaj B. Němec, 1900, p. 96—119; P. N. Schürhoff, 1926, p. 102.

partje tkanki bielmowej zawierają w komórkach ziarna duże i w liczbie bardzo znacznej (Ryc. 21).

Zgadza się to częściowo z obserwacjami Němeca (1910), dotyczącemi bielma *Secale cereale*; według pomienionego autora „...dem Embryo anliegende Endosperm bleibt ziemlich lange teilungsfähig und frei von reichlicher Reservestärke“ [1]).

Dodać wreszcie muszę, że zarówno w bielmie jądrowem, jak i w bielmie komórkowem *H. Katharinae* stwierdzić można (i na materjale świeżym i na materjale utrwalonym), że w trakcie kinezy niema równego podziału amyloplastów (ze skrobią) pomiędzy proto-



Ryc. 19. Bielmo jądrowe z preparatu przygotowanego metodą Bellinga. Kopulacja jąder i podział jądra triploidalnego. Apochr. Zeissa 4 *mm* $\times$ okul. proj. Nr. 1. $\times$ 450.

plasty pochodne. Zwykle przeważna część materjału tego grupuje się na biegunie zwróconym nazewnątrz woreczka zalążkowego. Nie ulega wątpliwości, że na stosunki rzeczone wywierają wpływ decydujący zależności korelacyjne („determinierende Korelation“ Küstera), panujące z jednej strony pomiędzy bielmem i zarodkiem, o czem zresztą już powyżej wspominałem.

Zarodek (intensywnie zielony) w nasieniu dojrzałem w najogólniejszych zaledwie zarysach przypomina stosunki panujące u *Endymion, Narcissus* lub *Scilla bifolia*, gdyż u *Haemanthus* — wbrew temu co podaje Chouard (1926), dla ustalonych przez siebie „typów“ —

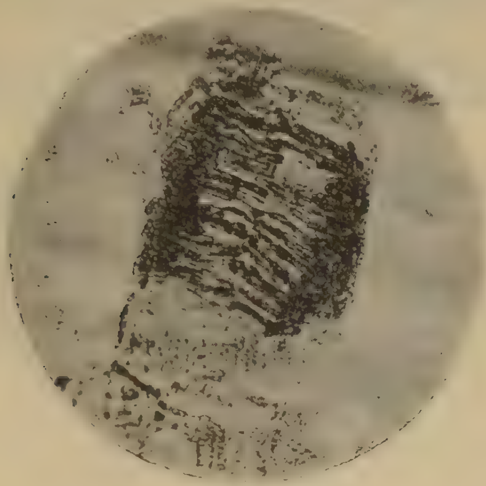
---

[1]) L. c., p. 104.

wyraźnie jest zarysowana pochwa liścieniowa [1]) z pączkiem w swej pachwinie, o czem dokładnie świadczy prócz szematu (Ryc. 22 i załączona do tekstu mikrofotografja (Ryc. 23).

* * *

Wracając teraz do tematu, poruszonego we wstępie, zaznaczyć wypada, że skórka dojrzałych jagód *Haemanthus Katharinae* składa się z płaskich komórek z dużą centralną wakuolą, zabarwioną na kolor czerwony. Jądro otaczają dość ściśle nieliczne chromoplasty, które ponadto występują i dalej w zarodzi. Głębsze warstwy owocu



Ryc. 20. Bielmo jądrowe w preparacie przygotowanym metodą Bellinga. Anafaza podziałowa jądra polyploidalnego. Apochr. Zeissa 4 *mm* × okul. proj. Nr. 4. × 500.

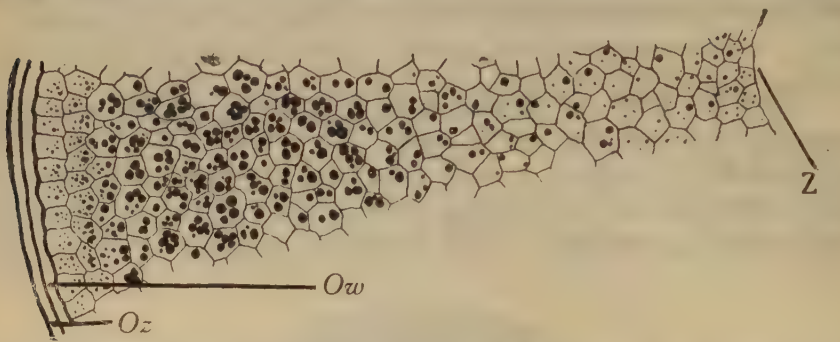
zbudowane są z dużych komórek miękiszowych, zawierających wielkie jądra i liczne bądź pojedyńcze, bądź grupkami zebrane chloroplasty. Bezbarwne wakuole z odczynnikiem Fehlinga lub α-naftolem dają wyraźną reakcję na cukry.

Jagody te zawierają podobnie, jak *H. tigrinus*, po 3, częściej wszakże po 2 lub nawet jedno tylko należycie wykształcone nasienie.

---

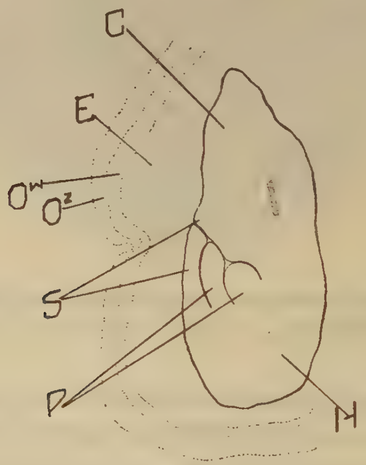
[1]) Chouard mówi: „Dans la graine, le cotylédon est un cylindre blanc et plain, sauf du côté du micropyle, où une cavité close, en forme de dôme... contient une mamelon qui est la gemmule“. L. c., p. 310 (kursyw mój). Już wszakże Klebs (1885), w ślad za Fischerem (1812), wyraźnie mówi o pochwie: „sehr tief geht auch die Scheide bei *Haemanthus puniceus, Amaryllis longifolia*, bei welchen die Wurzel anfangs relativ kurz bleibt“. L. c., p. 567.

Niesłusznem jest przeto uogólnienie Velenowsky'ego, który mówi, że „die Beerenfrüchte der Gattung [1]) *Haemanthus* (Amaryll.)



Ryc. 21. Szemat rozkładu ziarn skrobi na przekroju poprzecznym 6—8-tygodniowego bielma *H. Katharinae*. *O*z — okrywa zewnętrzna. *O*w — okrywa wewnętrzna. *Z* — wnęka po zarodku.

lassen einen einzigen, an einem langen Faden hängenden Samen heraus... [2]).



Ryc. 22. Szemat stosunków, panujących w dojrzałem nasieniu *Haemanthus Katharinae*. *C* — Liścień. *S* — pochwa liścieniowa. *P* — Pączek. *E* — Bielmo. *O*w — Okrywa wewnętrzna. *O*z — Okrywa zewnętrzna. *H* — Kolanko podliścieniowe (hypokotyl).

Czasami u *H. Katharinae* wszystkie owoce, które się należycie wykształciły [3]), kiełkują natychmiast, czasami tylko część z nich,

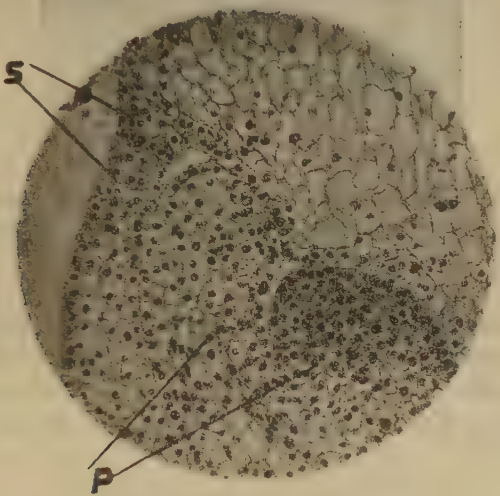
[1]) Kursyw mój.

[2]) Velenowský, J. L. c., p. 1108.

[3]) A zwykle dojrzewa z całego kwiatostanu [w warunkach hodowli szklarniowej lub pokojowej] owoców stosunkowo niewiele.

podczas gdy inne — zgodnie z przytoczonemi powyżej spostrzeżeniami Hildebranda — zaczynają kiełkować w pewien czas po opadnięciu z szypułki. U *H. Katharinae* wszakże dzieje się to w nasionach, okrytych szczelnie przyschniętemi i pomarszczonemi pokrywami owocu. Te właśnie wypadki musiał mieć na uwadze H. Schlimbach (1924), pisząc „der Embryo ist zur Samenreife noch nicht völlig entwickelt, er bedarf einer Nachreife“ [1]).

Dodam też, że we wszystkich owocach, z któremi miałem do czynienia, zarówno zewnętrzna jak i wewnętrzna okrywa zalążków były jednakowo rozwinięte i jednakowym uległy modyfikacjom



Ryc. 23. Podłużny przekrój przez zarodek *H. Katharinae* w okolicy pochwy liścieniowej. *S* — Pochwa liścieniowa o brzegach mocno zaciśniętych. *P* — Pączek (plumula). Apochr. Zeissa 4 *mm* × okul. proj. Nr. 4. × 70.

w trakcie rozwoju nasienia; można je z łatwością odnaleźć nawet w nasionach kiełkujących w postaci 2 odgraniczonych od siebie błonek, złożonych z 4 do 5 warstw komórek, pozbawionych treści, silnie zfałdowanych i pomarszczonych. Zdaje mi się przeto, że zdanie Schlimbacha: „Nach Befruchtung der Eizelle wächst der Embryosack und das äussere Integument mächtig heran, das innere verschwindet“ [2]) polega na nieporozumieniu.

Bielmo, jak już wspomniałem wyżej, zarówno jak i zarodek, zawierają w swych komórkach bardzo liczne ziarna skrobi. Są one

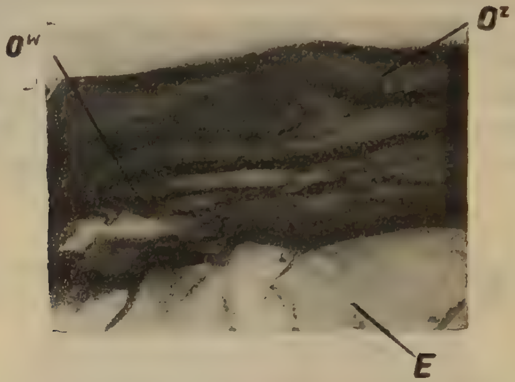
---

[1]) Schlimbach, H. L. c., p. 47.

[2]) L. c., p. 74.

bądź proste bądź złożone, a w młodem bielmie jasno rysuje się kontur plastydów, w których łonie powstały.

Później, skoro już zarodek wykształcił się całkowicie, resztki plastydów trudne są do wykrycia w bielmie (choć i tam dają się



Ryc. 24. Brzeg bielma w kiełkującem nasieniu z dwoma okrywami. O^w — okrywa wewnętrzna. O^z — okrywa zewnętrzna. *E* — bielmo. Obj. Reicherta Nr. 6 × okul. Leitza Nr. 8. × ± 350.

wyróżnić), bardzo wyraźnie natomiast występują one w tkankach zarodka, w materjale utrwalonym metodą Regaud i barwionym bądź hematoksyliną, bądź metodą Champy-Kulla w modyfikacji Maximowicza. Każde ziarno resztkę tę posiada czy to w postaci



Ryc. 25. Plastydy z ziarnami skrobi z 3-ej i 4-ej warstwy zewnętrznej bielma *H. Katharinae.* × 450.

delikatnej pełnej otoczki, b. zbliżonej do tego, co widzimy na ryc. 1 pracy Mottier z roku 1918, czy półksiężyca, czy też wreszcie w postaci brzeżnej resztki i śladów, wypełniających przestrzeń pomiędzy poszczególnemi ziarnami ziarna złożonego. W tych wy-

padkach, w których resztki plastydów położone są z boku koncentrycznie uwarstwionych ziarn skrobi, odrywają się one łatwo od ziarna i leżą wolne w komórce w postaci długich, cienkich, czasami prostych, częściej zagiętych utworów, silnie wybarwionych hematoksyliną lub fuksyną.

Wracając do owoców o nasionach kiełkujących na szypułce, w których przeto mamy do czynienia z niezaprzeczonym żyworództwem [1]), to jagody takie wysoce zmieniają z biegiem czasu swe



Ryc. 26. *A* — Jagoda, w której kiełkuje jedno nasienie. *B* — Jagoda o dwóch kiełkujących nasionach. Wielkość naturalna.

kształty i tem uzewnętrzniają procesy, rozgrywające się pod osłoną owocni (Ryc. 26).

Jak różnie wyglądają owoce, z których wnętrza przebijają się kiełki, widać z załączonej poniżej fotografji (Ryc. 27).

---

[1]) Zjawisko, o którem mowa, niezwykle przypomina opis stosunków, spotykanych u *Rivina laevis* L. w warunkach hodowli szklarniowej. Velenovský (1910, p. 1099 i 1101), który je podaje dość dokładnie, pisze to, co można w zupełności zastosować do *H. Katharinae* a mianowicie: „In den Glashäusern ist die beschriebene Erscheinung aber etwas regelmässiges". Goebel (1901, p. 459) tak określa zjawisko viviparii: „Streng genommen sind darunter nur solche (Pflanzen) zu verstehen, bei denen der Embryo, ohne eine Ruheperiode durchzumachen, schon solange die Frucht noch an der Mutterpflanze ist, keimt". Velenovský dodaje: „die vivipare Keimung ist eine konstante und erbliche Eigenschaft..." (L. c., p. 1099). Z tego wynika, że należałoby wyróżnić: „żyworództwo wrodzone i przygodne".

Kiedy owoc, oznaczony liczbą 4, jest jeszcze pełny i gładką posiada powierzchnię, owoce 1, 2, 3 są silnie pokurczone. Kiełki przebiły się nazewnątrz u podstawy rzeczonych jagód, w pobliżu przymocowania ich do szypułki; stanowią one oczywiście kolanka podliścieniowe z zawiązkiem korzenia na swym szczycie i kołnierzem



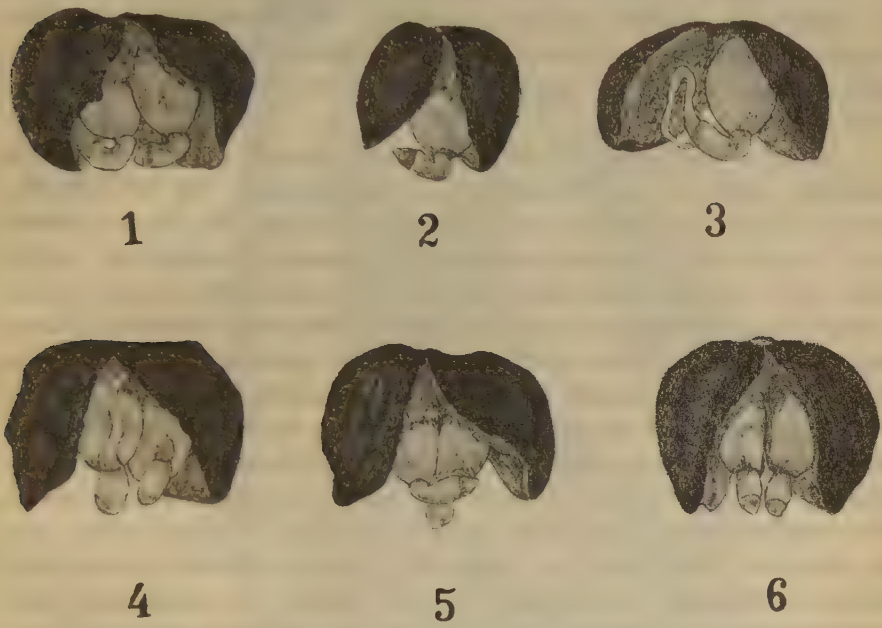
Ryc. 27. Owocostan *H. Katharinae* z jagodami w okresie kiełkowania nasion (grudzień 1929). Wielkość naturalna.

delikatnych długich włośników na granicy obu organów. W tym przeto wypadku — pomimo zaliczenia przez K l e b s a *Haemantusa* do typu I[1]) — sposób kiełkowania *H. Katharinae* zbliżałby się do typu VI rzeczonego autora, który go charakteryzuje jak następuje:

[1]) L. c., p. 566.

„Hauptwurzel während der Keimung wenig oder gar nicht wachsend; ein Kranz von Wurzelhaaren an dem Wurzelhals vertritt dieselbe“ [1]).

O liczbie nasion w owocach, jak również o położeniu o charakterze wzrostu kiełków daje pojęcie ryc. 28. Mamy tu 6 jagód o owocni rozdartej w ten sposób, że widać kiełkujące nasiona. W jagodzie 2 i 3 wykształciło się tylko po jednem nasieniu, w pozostałych zaś (1, 4, 5. 6) po 2. W owocu 6-ym obydwa nasiona wydały dwa krótkie, proste, równolegle ułożone kiełki, w owocach natomiast



Ryc. 28. Sześć jagód, których nasiona kiełkują żyworodnie (grudzień 1929). Wielkość naturalna.

1, 2 i 5 są one mocno pozaginane; wreszcie w jagodach 3 i 4 kiełkowanie wewnątrz owocu nie ograniczyło się na kolanku, lecz wytworzył się dość długi korzeń zasadniczy, który w jagodzie 3-ej zmuszony był w różnych wygiąć się kierunkach.

H i l d e b r a n d takie zachowanie się nasion u *H. tigrinus* obserwował r a z tylko i objaśnił sobie to niezwykłe dla siebie zjawisko tem, że prawdopodobnie „...die Fruchtwand beim Abreisen vom Stiel der Beere etwas verletzt worden war, was sich nach Eintrock-

[1]) L. c., p. 575.

nung der letzteren nicht mehr feststellen lies"[1]). U *H. Katharinae*, jak widać z powyższego, zjawisko żyworództwa w warunkach hodowli szklarniowej jest zjawiskiem aż nazbyt częstem, a zachowanie się jego owoców i nasion świadczy wymownie o tem, że przypuszczania Hildebranda, jakoby do kiełkowania nasion *Haemanthus tigrinus* nieodzowny jest bezpośredni dostęp powietrza, wymaga conajmniej dalszych obserwacyj.

* * *

Jak widać z ryc. 27 w bogatym kwiatostanie *H. Katharinae* nie wszystkie zalążnie wydają owoce, a co więcej, nie wszystkie zalążki normalnie się rozwijają nawet wówczas, kiedy woreczek zalążkowy wykształcił się typowo i kiedy w mikropyle można stwierdzić obecność łagiewki.

Jedną z najczęstszych anomalji, spotykanych w trakcie niedorozwoju zalążków u *Haemanthus* jest przewężanie się ich ośrodka w ten sposób, że przybiera on postać butelki (Ryc. 29). Wraz z ośrodkiem zapada się i okrywa wewnętrzna; zewnętrzna natomiast zachowuje swą konfigurację, silnie odstaje od pozostałej części zalążka i przykrywa ujście, poprzez które wysuwa się szczyt ośrodka. Szczyt ten pokryty jest tylko skórką, pod którą spoczywa (bezpośrednio pod szerokiem mikropyle) normalnie wykształcone jajo i dwie synergidy[2]). Jądra w nich są maleńkie, osadzone na dnie komórek, a plazma poniżej doskonale wykształconego aparatu nitkowego ma charakter bezstrukturalny, szklisty i barwi się silnie barwnikami jądrowymi. Pod szyjkowatem zwężeniem zalążka, w jego brzusznej części, leżą w woreczku zalążkowym na zwyrodniałym postamencie mocno spłaszczone antypody. Zwakuolizowana ich plazma jest ziarnista i tylko gdzieniegdzie występują w niej lamelarne ergastoplastyczne struktury.

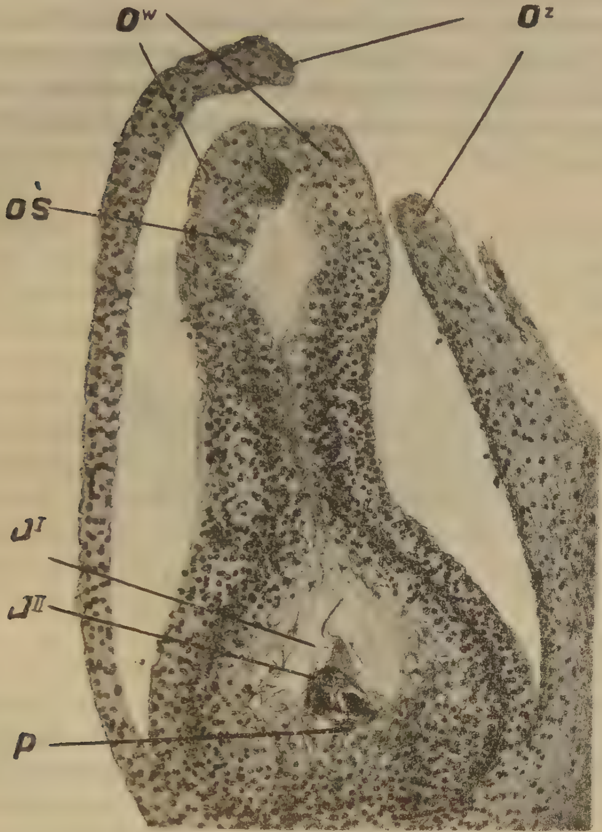
Na antypodach — w piramidalnem skupieniu gęsto drobnoziarnistej zarodzi — leży dolne jądro biegunowe o nieprawidłowych, mocno falistych zarysach. Jego jąderko jest duże, pełne i silnie jednolicie wybarwione. Karyotyna ma charakter drobnych nieprawidłowych ziarenek połączonych subtelnemi mostkami; wyściela ona pofałdowaną błoną jądra i tworzy strumyki, biegnące od błony ku jąderku, leżącemu w centrum jądra. Pod szczytem plazmatycznego stożka widać z lewej strony zupełnie wyraźne zarysy (Ryc. 29 J^{II})

---

[1]) L. c., p. 378.

[2]) Opis podaję na zasadzie materjału utrwalonego mocnym płynem Flemminga i barwionego safraniną i zielenią jasną, bądź hematoksyliną żelazową i fioletem gencjanowym.

drugiego jądra biegunowego, które znalazło się w tem miejscu już tylko w postaci resztki, mającej charakter nieregularnego pęcherzyka, wysłanego na wewnętrznej stronie swej błony rozproszonemi ziarenkami karyotyny. Jest to przeto zjawisko typowej karyoreksji (w terminologji Bonneta[1]), poprzedzanej przez rozpad jądra, przy-



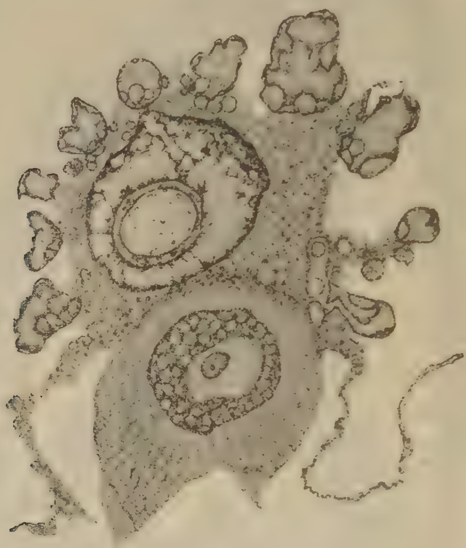
Ryc. 29. Przekrój podłużny przez zalążek *H. Katharinae*. O^z — okrywy zewnętrzne. O^w — okrywy wewnętrzne. *Os* — ośrodek zalążka. J^I — jądro biegunowe górne. J^{II} — jądro biegunowe dolne. *Pt* — postament, na którym spoczywają synergidy. Obj. Reicherta Nr. 3 × okul. Nr. 8. × ± 80.

pominający to, co Bessie Goldstein (1928) opisała pod nazwą „budding nuclei“ dla jąder, występujących w komórkach miękiszu „of mottlet lily leaf“ [2]).

[1]) Bonnet, l. c., p. 675.
[2]) L. c., p. 375.

W niektórych wypadkach zjawisko chorobliwego bezwątpienia „p ą c z k o w a n i a“ jąder biegunowych ma niezwykle oryginalny charakter (Ryc. 30 i Tabl. III, fig. 3). Widać bowiem wówczas wokół jądra (jak w danym wypadku dolnego jądra biegunowego) całą aureolą, złożoną z mniejszych i większych, bardziej lub mniej nieregularnych utworów, których wnętrze jest bezbarwne, a błonka pokryta od wewnątrz rozproszonemi na niej drobniutkiemi ziarnami karyotyny.

Na tabl. III, fig 3 w miejscu wskazanem linją przerywaną, widać nawet ostro zakończoną wypustkę jądra, opatrzoną „pączkiem“, leżącym jednak w innej płaszczyźnie i dlatego mglistym. W tych wo-



Ryc. 30. Jądro biegunowe górne z aureolą popękanych „pączków“. Obj. imm. Leitza o apert. 1·3 × okul. Leitza N 10. × ± 1040. W reprodukcji zmniejszony o 1/3.

reczkach, w których zjawisko rzeczone występowało w całej swej wyrazistości, antypody wykazywały już również cechy wysoce anormalne, gdyż cała ich plazma posiadała strukturę lamelarną. Czasami lamele „ergastoplazmatyczne“ [1]) ułożone są bardzo regularnie, a więc równolegle do powierzchni jądra i komórki (Tabl. IV, fig. 5), czasami zaś stanowią jakgdyby nieregularne zwichrzone ich sploty (Tabl. III, fig. 4). W tym ostatnim wypadku, który wielce przypomina opis

[1]) W. R o b y n s (1928) wyróżnia tego rodzaju struktury ergastoplatyczne o charakterze artefaktów od „ergastoplasme vrai“. Ta, zdaniem autora: „est donc une différenciation fonctionelle, qui constitue probablement un élément caractéristique et constant des cellules sécrétrices“. L. c., p. 189.

antypod u *Delphinium formosum*, podany przez Cappellettiego (1927) [1]) z całą pewnością stwierdzić można, iż na preparatach mamy do czynienia z niezwykle silnie zwakualizowaną plazmą [2]), w której utrwalacz wywołał deformacje wakuol, a barwnik zaakcentował pozapadane ściany.

Tego rodzaju „pączkujące jądra" biegunowe wyrodnieją bądź na swych stanowiskach zwykłych, bądź też już w drodze ku nim; znaną one wówczas wyraźny ślad przebytej drogi i pozwalają na zorjentowanie się w losach owych „pączków" (Tabl. III, fig. 1 i 2), które w miarę swej degeneracji tworzą mniejsze lub większe szkliste pęcherzyki, zabarwione zlekka (wskutek chromatolyzy) barwnikami jądrowemi.

Nadmienić trzeba, że w plazmie, poprzez którą jądro biegunowe podąża ku swemu partnerowi, leżącemu ponad antypodami, ujawniają się zaburzenia, polegające na zbijaniu się w konglomeraty kropelek tłuszczowych, rozproszonych dotychczas w plazmie prawie równomiernie.

W krańcowych wypadkach takiego chorobliwego „pączkowania" jąder biegunowych woreczka dochodzić może do tego, że na preparatach, utrwalonych, jak i poprzednio, mocnym płynem Flemminga i barwionych safraniną i zielenią jodową, w plazmie nadantypodalnej spoczywa nieregularnych zarysów resztka, całkowicie karyolizowanego jądra biegunowego górnego w otoczeniu swych „pączków" (Tabl. IV, fig. 6 w obrębie linij przerywanych), które (p. niżej położone linje przerywane) wraz z niem zupełnie się już nie barwią. Mamy przed sobą grupę szklistych, przezroczystych pęcherzy, przypominających to, co w roku 1912 opisał Tischler w bielmie u *Ficus Carica*, jako „prachtvolle Chromatolyse" [3]) z tą wszakże różnicą, że u *Haemanthus* nawet i jąderko jądra biegunowego górnego uległo degeneracji, pozostawiając po sobie tylko ślad w postaci delikatnych konturów (Tabl. IV, fig. 6, linja ciągła).

W wypadku, o którym mowa, jądro biegunowe dolne ulega karyocholozie w sensie Tischlera (1922) [4]). Jego jąderko rośnie nadmiernie, karyotyna zaś rozłożona w postaci ziarnistych promieni, biegnących od jąderka ku błonie, barwi się słabo.

---

1) Cappelletti pisze: „Gruppo di antipode con plasma denso, vacuolizzato (quasi spugnoso)". L. c., p. 484.

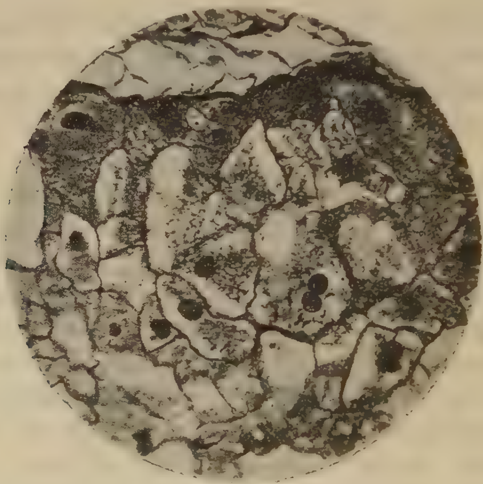
2) Być może, że mamy tu do czynienia ze zwyrodnieniem plazmy, które Küster (1929) zalicza do t. zw. „schaumige Deformation der Protoplasmas". L. c., p. 146.

3) Tischler, G. L. c., p. 688.

4) L. c., p. 691.

Bardzo charakterystyczną jest również anomalja, polegająca na tem, że w wielu zalążkach ośrodek wyrasta poza obręb obu okryw, co w pewnej mierze przypomina nam stosunki, panujące u *Sympetalae* [1]). Szczyt zalążka składa się wówczas z pięciowarstwowej okrywy zewnętrznej, szczelnie otaczającej wypiętrzony ośrodek, złożony z jednej lub dwu warstw komórek, przerwanych przez bujający nazewnątrz i mocno nabrzmiały woreczek zalążkowy (Tabl. IV, fig. 8).

W tem nabrzmieniu woreczka spoczywają (poniżej niewielkiej brodawki plazmatycznej) synergidy i jajo, nieco zaś dalej, w szyjkowatem zwężeniu, powstałem na skutek rozrośnięcia się szczytu okrywy



Ryc. 31. Cytoliza komórek bielma w chalazalnym brzegu zalążka *H. Katharinae.* Obj. Zeissa 8 *mm* $\times$ okul. proj. Nr. 4. $\times \pm 130$.

wewnętrznej, leży wielkie jądro biegunowe górne. Jajo w woreczkach takich jest niezwykle duże, obficie wypełnione drobniutkiemi kropelkami tłuszczu i dużemi plastydami z ziarnami skrobi. Jądro biegunowe górne ma jedno wielkie, pełne, mocno barwiące się jąderko i karyotynę w postaci drobniutkiej, lecz bardzo gęstej ziarnistej zawiesiny (Tabl. IV, fig. 8). Co do antypod, to plazma ich ma całkowicie strukturę włóknistą, jądra zaś są silnie przerośnięte i hyperchromatyzowane.

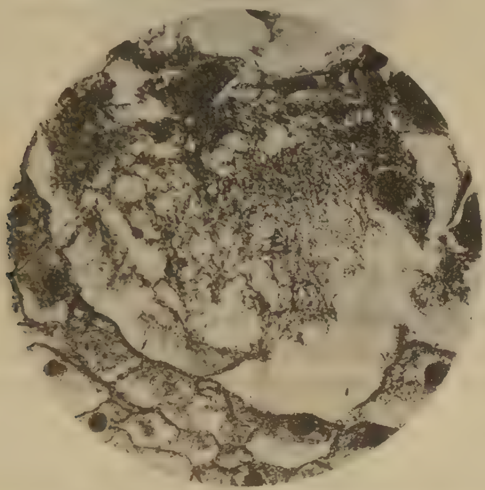
Wreszcie w butelkowato przewężonych zalążkach może następować skrzywienie ośrodka tego rodzaju, że szerokie mikropyle,

---

[1]) Schürhoff, P. N. L. c., p. 288—289.

utworzone przez okrywę zewnętrzną, zostaje zakorkowane przez skórkę ośrodka, pod którą leżą jeszcze dodatkowe pokłady komórek (Tabl. IV, fig. 7).

Synergidy spoczywają nieco bliżej zatkanego mikropyle, jajo zaś, leżąc poniżej nich, jest już od mikropyle dość znacznie odsunięte. Wszystkie te elementy wykazują strukturę normalną; antypody natomiast pozbawione są typowego postamentu i prócz struktur ergastoplazmatycznego charakteru wykazują ameboidalne jądra z wyraźną karyolizą ich treści. Z jądra biegunowego górnego w takich woreczkach wcześnie nie pozostaje już ani śladu, a jądro biegunowe dolne, tracąc w znacznym stopniu swą osłonę plazmatyczną, kurczy się,



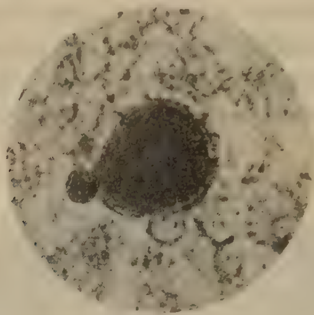
Ryc. 32. Piankowata degeneracja plazmy syncytium, powstałego przy cytolizie komórek bielma *H. Katharinae.* Obj. Zeissa 8 *mm* $\times$ okul. proj. Nr. 4. $\times \pm 130$.

wielkie jąderko silnie się wakuolizuje, a karyotyna barwi się słabo, wykazując tendencję do karyocholozy.

Na tem jednak nie kończą się zjawiska patologiczne, z któremi spotykamy się w trakcie rozwoju zalążków u *H. Katharinae.* Albowiem w nasionach, w których zaczęło się już tworzyć bielmo komórkowe, w pokładach komórek, zwróconych ku chalazalnemu brzegowi zalążku, rozgrywają się oryginalne o swoistym charakterze zjawiska. Polegają zaś one na zaniku granic poszczególnych terenów komórkowych i tworzeniu wielojądrowych mas plazmatycznych, atakujących elementy sąsiednie i niweczących ich dotychczas terenową samodzielność (Ryc. 31).

Przy takiej cytolizie bielma w komórkach, które ulegają niweczeniu, plazma (przy stosowaniu metody Regaud do utrwalania) okazuje wyraźną degenerację piankowatą (Ryc. 32), poprzedzoną przez zanik skrobi i plastidomu (ew. chondriomu).

Jądra, przenoszone z komórki do komórki, kopulują po 2, 3 lub więcej, tworząc niekiedy utwory o bardzo nieregularnej postaci. Cza-



Ryc. 33. Pączkujące jądro w wyrodniejących komórkach bielma *H. Katharinae*. Obj. Zeissa 8 *mm* × okul. proj. Nr. 2. × ± 350.

sami jądra atakowanych komórek „pączkują" w taki sam sposób (Ryc. 33), jak jądra biegunowe z tą może różnicą, że jąderko ginie bardzo wcześnie, a karyotyna, rozpuszczając się gwałtownie w soku jądrowym, zalewa równomiernie teren jądra i maskuje szczegóły jego struktury.

Z Zakładu Botaniki Ogólnej Uniwersytetu Warszawskiego.

Objaśnienia tablic.

Tablica III.

Fig. 1 i 2. Dwa następujące po sobie skrawki centralnych okolic woreczka zalążkowego *H. Katharinae*. Na fig. 1 widać z lewej strony w obrębie linji kropkowanych (J^{I}) szereg „pączków" opuszczającego się ku antypodowi jądra biegunowego górnego, którego resztki wraz z zwakuolizowanem jąderkiem tkwią na skrawku następnym (fig. 2). W tej samej płaszczyźnie widać pęcherzykowatą resztkę zwyrodniałego jądra biegunowego dolnego (fig. 2 — J^{II}).

Obj. Reicherta Nr. 3 f × okul. Leitza Nr. 12. × ± 120.

Fig. 3. Antypodalny brzeg woreczka zalążkowego u *H. Katharinae*. Ponad antypodą widać jądro biegunowe dolne z olbrzymią wakuolą w jąderku i aureolą „pączków". Linja kropkowana wskazuje na miejsce pączkowania.

Obj. Reicherta Nr. 6 f × okul. Leitza Nr. 8. × ± 350.

Fig. 4. Antypoda ze zwichrzoną strukturą ergastoplazmatyczną. Obj. Reicherta Nr. 6 f × okul. Leitza Nr. 8. × ± 350.

Tablica IV.

Fig. 5. Dwie antypody z lamelarną „ergastoplasmą".

Obj. Reicherta. Nr. 6 f × okul. Leitza Nr. 8. × ± 350.

Fig. 6. Antypodalny brzeg woreczka zalążkowego u *H. Katharinae*. Na zwyrodniałem postamencie leżą dwie nieco skurczone przy utrwalaniu antypody. Nad niemi degenerujące skutkiem karyocholozy jądro biegunowe dolne (J^{II}); powyżej — resztki jądra biegunowego górnego (J^{I}) w postaci jednego pęcherza większego o falistym brzegu i kilku mniejszych. Jąderko (J^{0}) tego jądra również w postaci śladów.

Obj. Reicherta Nr. 6 f × okul. Leitza Nr. 8. × ± 350.

Fig. 7. Szczyt zalążka *H. Katharinae* ze skrzywionym ośrodkiem. O^{z} — okrywa zewnętrzna. O^{w} — okrywa wewnętrzna. $O^{ś}$ — ośrodek skrzywiony w ten sposób, że jajo leży w miejscu, wskazanem przez linję przerywaną *K. J.*

Obj. Reicherta Nr. 6 f × okul. Leitza Nr. 5. × ± 220.

Fig. 8. Szczyt zalążka *H. Katharinae* z bujającym woreczkiem zalążkowym. O^{z} — okrywa zewnętrzna. O^{w} — okrywa wewnętrzna. $O^{ś}$ — ośrodek zalążka. W^{z} — woreczek zalążkowy, wysuwający się swobodnie z ośrodka. Na skrawku mglisty aparat jajowy i bardzo wyraźne jądro biegunowe górne.

Obj. Reicherta Nr. 6 f × okul. Leitza Nr. 5 × ± 220.

Spis literatury.

Bonnet, J. 1912. Archiv für Zellforschung. T. 7.

Capelletti, C. 1927. Nuovo Giornale Botanico Italiano. V. 34.

Chouard, P. 1926. Ann. d. Sc. Nat. Ser. X, T. VIII, Nr. 3—6.

Engler, A. u. Prantl, K. 1889. Die natürlichen Pflanzenfamilien.

Goebel, K. 1901. Organographie der Pflanzen. Jena.

Goldstein, B. 1928. Bot. Gaz. T. 86. Nr. 4.

Hildebrand. Fr. 1900. Ber. d. D. bot. Ges., Bd. 18.

Klebs, G. 1885. Untersuch. aus d. Bot. Instit. zu Tübingen Bd. I, H. 4.

Küster, E. 1929. Pathologie d. Pflanzenzelle. T. I. Berlin.

Mottier, D. M. 1918. Ann. of Botany. V. 32, Nr. 125.

Němec, B. 1910. Das Problem der Befruchtungsvorgänge. Berlin.

Netolitzky, F. 1926. Anatomie der Angiospermensamen. Handb. d. Pflanat. v. K. Linsbauer. Berlin.

Robyns, W. 1928. La Cellule. T. 38.

Schlimbach, H. 1924. Flora, Bd. 117.

Schürhoff, P. N. 1926. Die Zytologie der Blütenpflanzen. Stuttgart.

Souège, R. 1910. Bull. Soc. Bot. France, T. 57.

Stenar, A. 1925. Embryologische Studien. I, II. Upsala.

Tischler, G. 1922. Allgemeine Pflanzenkaryologie. Handbuch d. Pflanat. v. L. Linsbauer. Berlin.

Velenovský, J. 1910. Vergleichende Morphologie d. Pflanzen. T. III.

Zusammenfassung.

Im ersten Teile dieser Arbeit berichtet der Verfasser über die Art und Weise der Entstehung des Embryos, sowie des Endosperms,

welches zuerst nukleären und dann zellulären Charakter hat. Die Kerne in dem nukleären Endosperm besitzen vielartige Umrisse und Grösse (Fig. 18), auch zeigen sie verschiedene Kopulationsmomente (Fig. 19), welche solche Anaphasen wie in Fig. 20, ganz genügend erklären.

Sechs bis 8 Wochen nach der Blüte, gibt es schon in den Embryosäcken gut entwickeltes, massives Endospermgewebe, in welchem die einerseits zwischen Nucellus, Integumenten und Endosperm, andererseits — zwischen Endosperm und Embryo herrschende „determinierende Korrelation" (Küster) über Lage und Grösse der Stärkekörner entscheidet (Fig. 21). Weiter weist Verfasser nach, dass bei vollentwickeltem Embryo von *Haemanthus* — entgegen den Angaben Chouard's, betreffend die von ihm festgestellten Typen — eine scharf ausgeprägte Kotyledonarscheide (Fig. 22 und Photo 23), wie bei Monocotyledonen üblich, auftritt.

Die Beeren von *H. Katharinae*, wie bei *H. tigrinus*, besitzen 3, öfter 2 oder nur einen einzigen Samen. In einigen Fällen keimen alle Früchte sofort nach der Reife, wenn die Beeren noch am Stiele sitzen, manchmal keimt nur ein Teil von ihnen, während der andere Teil — übereinstimmend mit den Beobachtungen Hildebrand's — erst gewisse Zeit nach dem Abfallen zur Keimung gelangt. Es muss hinzugefügt werden, dass immer das innere, wie auch das äussere Integument ganz gleichmässig entwickelt sind und in den keimenden Samen als zwei feine aus 4—5 leeren zusammengepressten Zellenreihen bestehenden Häutchen (Fig. 24) nachgewiesen werden konnten. Daher kann man annehmen, dass die Beobachtung Schlimbach's betreffs Verschwinden des inneren Integuments auf einem Missverständnis beruhen dürfte.

Die Früchte, in welchen die Samen vivipar [1]) an den Stielen keimen (Fig. 27), verändern ihre Gestalt solcher Art, dass man daran die in ihrem Innern sich abspielenden Prozesse erkennen kann (Fig. 26 *A* u. *B*). Wie Fig. 28 zeigt, beschränken sich die vivipar keimenden Samen in einigen Fällen auf ein ganz kleines Hypokotyl, in anderen Fällen aber bilden sie auch die mehr oder weniger langen Wurzeln, welche in extremen Fällen einige Windungen machen. Hilde-

---

[1]) Nach Goebel (1911, p. 459) sind: „...unter Viviparie nur solche Fälle zu verstehen, ...bei denen der Embryo ohne eine Ruheperiode durchzumachen, schon solange die Frucht noch an der Mutterpflanze ist, keimt"; Velenovský (1910, p. 1099) fügt hinzu: „die vivipare Keimung ist eine konstante und erbliche Eigenschaft". Hieraus ergibt sich, dass wir zwischen (angeborener) obligater und (zufälliger) fakultativer Viviparie unterscheiden müssen.

brand hatte eine solche Erscheinung bei *H. tigrinus* nur einmal beobachtet und erklärte sie dadurch, dass „...die Fruchtwand beim Abreissen vom Stiel der Beere etwas verletzt worden war, was sich nach Eintrocknung der letzteren nicht mehr feststellen liess“. Bei *H. Katharinae* ist die Viviparie nicht durch die Verletzung der Früchte bedingt, weshalb die Vermutung Hildebrand's, dass zur Keimung der Samen von *Haemanthus* unbedingt der unmittelbare Luftzutritt nötig sei, zum mindesten weiterer Beobachtung bedarf.

Wie aus Fig. 27 zu ersehen ist, geben bei *H. Katharinae* von den sehr zahlreichen Blüten des Blütenstandes nur wenige Fruchtknoten Früchte und was noch wichtiger, es entwickeln sich nicht alle Samenanlagen normal, sogar dann nicht, wenn der Embryosack typisch ausgebildet ist und man in der Mikropyle die Anwesenheit des Pollenschlauches feststellen kann.

Eine der häufigsten Anomalien, die während der pathologischen Entwicklung der Samenanlage bei *Haemanthus* angetroffen wird, ist eine Umgestaltung des Nucellus derart, dass er die Form einer Flasche (Fig. 29) annimmt. Zugleich mit dem Nucellus fällt auch das innere Integument zusammen, das äussere dagegen behält seine Konfiguration bei. Es steht stark ab und bedeckt den Ausgang, durch welchen sich der Gipfel des Nucellus hinausschiebt. Dieser Gipfel ist nur mit Epidermis bedeckt, worunter aber, unmittelbar unter der breiten Mikropyle, ein normal ausgebildetes Ei und zwei Synergiden ruhen. Die Kerne der letzteren sind klein und auf dem Zellengrunde angesetzt; das Plasma unterhalb des vorzüglich ausgebildeten Fadenapparates hat einen strukturlosen glasigen Charakter und färbt sich stark mit Kernfarbstoffen. Unter der halsförmigen Verengerung der Samenanlage, in ihrem bauchigen Teile, liegen im Embryosack auf dem degenerierten Postament, stark verflachte Antipoden. Ihr vakuolisiertes Plasma ist körnig und nur hier und da treten in ihr lamellare ergastoplasmatische Strukturen auf.

Auf den Antipoden, in der pyramidalen Anhäufung des dichten kleinkörnigen Protoplasmas, liegt der untere Polkern von unregelmässigen, stark welligen Umrissen. Sein Nukleolus ist gross, voll und einheitlich stark gefärbt. Das Karyotin hat den Charakter winziger unregelmässiger Körnchen, durch feine Brückchen verbunden. Diese Körnchen bedecken die gefaltete Kernmembran und bilden Ströme, die von der Membran zu dem im Kernzentrum gelegenen Nukleolus hinziehen. Unter dem Gipfel des plasmatischen Kegels sieht man (Fig. 29) den zweiten Polkern, der sich an dieser Stelle nur noch in Gestalt von unregelmässigen Bläschen befand, die auf der inneren

Membranseite mit zerstreuten Karyotinkörnchen besetzt sind; das ist also eine typische Karyorhexis (nach Bonnet), welcher der Zerfall des Kernes vorausgegangen ist. Letztere Erscheinung erinnert daran, was Bessie Goldstein (1928) unter dem Namen „budding nuclei“ für Kerne beschreibt, die in den meristematischen Zellen „of mottlet lily leaf“ auftreten. In einigen Fällen hat die zweifellos krankhafte „Knospung“ der Polkerne einen ungewöhnlich eigenartigen Charakter (Fig. 30 u. Photo 3, Taf. III). Man sieht nämlich dann rings um den Kern (wie im gegebenen Falle des unteren Polkernes) eine ganze Aureole, bestehend aus kleineren und grösseren, mehr oder weniger regelmässigen Gebilden, deren Inneres farblos ist und deren Membranen mit verstreuten winzigen Karyotinkörnchen von innen bedeckt sind. Auf Photo 3, Taf. III, auf der mit einer unterbrochenen Linie bezeichneten Stelle, sieht man sogar einen zugespitzten Kernsprössling mit einer Knospe versehen, die aber in einer anderen Fläche liegt und deshalb unklar ist.

In diesen Embryosäcken, in denen die erwähnte Erscheinung in ihrer ganzen Deutlichkeit auftrat, wiesen auch schon die Antipoden stark anormale Eigenschaften auf, denn ihr ganzes Plasma besass lamelläre Struktur. Manchmal sind die „ergastoplasmatischen“ Lamellen sehr regelmässig gelagert, also parallel zur Kernoberfläche und Zelle (Photo 5, Taf. IV); manchmal jedoch scheint es, als ob sie unregelmässige, zerzauste Flechten darstellen (Photo 4, Taf. III). Im letzten Falle, welcher sehr an die von Capelletti (1927) angegebene Beschreibung der Antipoden bei *Delphinium formosum* erinnert, lässt sich mit voller Sicherheit behaupten, dass wir es auf den Präparaten mit einem ungewöhnlich stark vakuolisierten Plasma zu tun haben, in welchem das Fixierungsmittel eine Deformation der Vakuolen hervorgerufen hat und das Färbungsmittel die eingesunkenen Wände hervortreten liess.

Derartige „knospende“ Polkerne degenerieren entweder in ihrer gewöhnlichen Stellung oder auch auf dem Wege zu ihr. Dann bezeichnen sie deutlich die Spur des zurückgelegten Weges und gestatten die Orientierung über das Schicksal jener „Knospen“ (Photo 1 u. 2, Taf. III), welche je nach ihrem Degenerationszustand kleinere oder grössere glasige Bläschen bilden, die infolge der Chromatolyse gleichmässig mit Kernfarbstoffen gefärbt sind.

Es muss hervorgehoben werden, dass sich im Plasma, in welchem der Polkern sich zu seinem über den Antipoden liegenden Partner begibt, Strukturveränderungen zeigen, die auf die Zusammenballung der bisher im Plasma fast gleichmässig verteilten Fettröpf-

chen beruhen. In äussersten Fällen einer so krankhaften „Knospung" der Kopulationskerne des Embryosackes, kann man dazu kommen, dass im oberantipodalen Plasma der Rest des vollkommen karyolysierten oberen Polkernes von unregelmässigen Umrissen liegt, der von seinen „Knospen", welche sich, zugleich mit ihm, gar nicht mehr färben, umgeben ist. Wir haben es mit einer Gruppe glasiger, durchsichtiger Bläschen zu tun (Photo 6, Taf. IV), die daran erinnern, was im Jahre 1912 Tischler im Endosperm bei *Ficus Carica* als eine „prachtvolle Chromatolyse" beschrieb, jedoch mit dem Unterschied, dass bei *Haemanthus* sogar der Nukleolus des oberen Polkernes der Degeneration erlag, indem er nur die Spuren seiner Konturen hinterliess. Der untere Polkern erliegt der Karyocholose im Sinne Tischler's (1922): sein Nucleolus wächst übermässig an, das Karyotin aber ist in Form körniger, schwach sich färbender Strahlen ausgebreitet, die vom Nukleolus zur Membran verlaufen.

Sehr charakteristich ist auch eine Anomalie, die darauf beruht, dass in vielen Samenanlagen der Nucellus über die Grenzen beider Integumente hinauswächst, was in gewissem Masse an die bei *Sympetalae* herrschenden Verhältnisse erinnert. Der Gipfel der Samenanlage besteht dann aus einem fünfschichtigen äusseren Integument, welches den hervorstehenden Nucellus dicht umschliesst. Der Scheitel dieses Nucellus, welcher aus einer oder zwei Zellenschichten besteht, wird von dem nach aussen drängenden und stark geschwollenen Embryosack durchbrochen (Photo 8, Taf. IV). In der Erweiterung des Embryosackes ruhen (unterhalb der kleinen Warze) die Synergiden und das Ei; etwas weiter, in der halsförmigen Verengerung, die infolge Auswachsens des Gipfels des inneren Integumentes entstanden ist, liegt der grosse obere Polkern. Das Ei in solchen Embryosäcken ist ungewöhnlich gross, reichlich mit winzigen Fettropfen und grossen Plastiden versehen und mit Stärkekörnern angefüllt. Der obere Polkern hat einen grossen, vollen, sich stark färbenden Nucleolus und Karyotin in Gestalt einer feinen aber sehr dichtkörnigen Masse (Photo 8, Taf. IV).
Was die Antipoden betrifft, so hat ihr Plasma eine vollkommen faserige Struktur, die hyperchromatischen Kerne sind stark ausgewachsen.

Endlich kann in den flaschenförmigen Samenanlagen eine Krümmung der Nucellus derart eintreten, dass die breite Mikropyle durch die Epidermis des Nucellus, unter dem noch ein oder zwei Zellenschichten waren, verstopft ist (Photo 7, Taf. IV). Die Synergiden ruhen etwas näher der verstopften Mikropyle; das Ei, welches unter

ihnen liegt, ist schon ziemlich weit von der Mikropyle abgerückt. Alle diese Elemente weisen eine normale Struktur auf; die Antipoden dagegen, die ihr typisches Postament entbehren, zeigen ausser ihrer ergastoplastischen Struktur auch amoeboidale Kerne mit deutlich karyolysiertem Inhalt. Von dem oberen Polkern bleibt in solchen Embryosäcken bald keine Spur mehr übrig; der untere Polkern, in hohem Grade seine plasmatische Hülle verlierend, schrumpft ein; sein grosser Nucleolus vakuolisiert sich stark und das Karyotin färbt sich schwach, Tendenz zur Karyocholose zeigend [1]).

Darauf beschränken sich aber noch nicht die pathologischen Erscheinungen, die wir während der Entwicklung der Samenanlage bei *H. Katharinae* antreffen. Denn in den Samen, in welchen sich schon das zellige Endosperm zu bilden begann, spielen sich in den Zellenlagen, die nach dem chazalen Ende der Samenanlage gerichtet sind, eigenartige Erscheinungen ab. Sie beruhen auf dem Verschwinden der Grenzen einzelner Zellenterrains und der Bildung vielkerniger plasmatischer Massen, welche die benachbarten Elemente angreifen und ihre bisherige Selbständigkeit des Gebietes vernichten (Photo 31).

Bei solcher Cytolyse des Endosperms in Zellen, die der Vernichtung erliegen, zeigt das Plasma (bei Anwendung der Regaud — Fixierungsmethode) deutlich eine schaumige Degeneration (Photo 32), der das Verschwinden von Stärke und Plastidom (ev. Chondriom) vorausgegangen ist.

Die von Zelle zu Zelle übertragenen Kerne kopulieren zu je 2, 3 oder mehr, nicht selten Gebilde von sehr unregelmässiger Gestalt schaffend. Manchmal „knospen" die Kerne der angegriffenen Zellen ebenso (Photo 33) wie die Polkerne, mit dem Unterschiede vielleicht, dass der Nukleolus sehr früh verschwindet und das Karyotin, welches sich gewaltsam im Kernsaft auflöst, das Kernterrain gleichmässig überschwemmt und die Einzelheiten seiner Struktur verdeckt.

Institut für Allgemeine Botanik der Universität Warschau.

---

[1]) Zum Fixieren benutzte ich starke Flemmingsche Lösung (siehe p. 96).

Cycle évolutif du chromosome somatique. II. Observations sur le matériel fixé (racines d'*Haemanthus Katharinae* Back.)

Par

H. TELEŻYŃSKI.

(Planche V—VIII).

La plupart de nos connaissances sur les transformations de la structure des chromosomes, pendant la caryocinèse somatique, se rapportent aux plantes possédant de grands chromosomes et des noyaux riches en caryotine. A l'heure actuelle, grâce aux recherches de Grégoire et de ses élèves, nous savons tous quel est l'aspect des stades successifs de la différentiation des chromosomes, pendant la prophase, et leurs transformations télophasiques sur le matériel fixé des ces plantes. Nous n'avons point de doutes sur l'ordre dans lequel ces stades se suivent, car il nous a été possible d'examiner cette succession dans les cellules vivantes. Néanmoins, la structure des chromosomes mûrs, et ses transformations pendant la caryocinèse, n'est pas complètement éclaircie et reste toujours encore contestée.

La structure des chromosomes somatiques et ses transformations ont été expliquées de différentes manières. Il serait inutile de discuter toutes ces théories, quelquefois sans valeur et s'éloignant trop de la réalité dans leur interprétation. Il est indiqué cependant de se rendre compte des idées principales qui joignent, en deux groupes séparés, toutes les interprétations de la catachromase et de l'anachromase.

Le premier groupe comprend les auteurs d'après lesquels la *totalité de la substance chromosomique se transforme*, pendant la catachromase, *en un réseau de caryotine* de noyau au repos. Quelques-uns expliquent les transformations télophasiques des grands chromosomes par l'allogement des chromosomes entiers en fils qui s'arrangent

en zigzags ou en spirales (Strasburger 1882, Tamura 1923 etc.); d'autres — par le clivage longitudinal des chromosomes (Hof 1898, Lundegardh 1910, 1912, Fraser et Snell 1911, Granier et Boule 1911, Dehorne 1911, Digby 1910, 1912, 1919, Schustow 1913, Reed 1914, Carruthers 1923, Sarbadikhari 1928, Argyroudis 1929 etc.) ou par la dispersion de la substance chromosomique par la scission en granules (Merrimann 1904, Digby 1914, Schaede 1924, 1927, 1929, Yamaha 1926 etc.).

D'après la majorité des auteurs les transformations de la structure des chromosomes, pendant l'anaphase et pendant la télophase, consistent en l'alvéolisation des chromosomes, (Van Beneden 1883, Grégoire et Wygaerts 1904, Grégoire 1906, 1913, Němec 1910, Sharp 1914, 1920, Muller 1910, Overton 1922, de Litardière 1911 etc. et dernièrement Eichhorn 1927, 1928, 1929 et Conard 1929) qu'on expliquait autrefois par l'imbibition par le suc nucléaire de l'extérieur et dernièrement par la naissance du suc nucléaire à l'intérieur du chromosome sous forme de gouttes de secrétion qui ne se mélangent pas avec la substance chromosomique.

D'après la plupart des auteurs, la substance chromosomique se condense pendant la prophase en chromosomes simples et indivis qui se clivent plus tard, ou bien, selon d'autres, en chromosomes dédoublés, clivés déjà pendant la télophase précédente.

Le second groupe d'auteurs se compose de ceux à l'avis desquels le *réseau de caryotine* du noyau au repos *se forme*, pendant la télophase, *d'une partie de la substance chromosomique, morphologiquement définie*. D'après ces auteurs, la catachromase consiste en une apparition et en une transformation du constituant chromonémique des chromosomes, dont le substratum achromatique ou autrement dit „matrix" disparaît graduellement.

L'importance de ces deux constituants du chromosome a été considérée de différentes manières.

L'avis de quelques auteurs (Bonnevie 1908, 1911, 1913, Vejdovsky 1911/12, 1926/27, Kaufmann 1926 a, 1926 b) est que la „matrix" se disperse dans la caryolimphe et ne prend pas part dans la différentiation des chromosomes prophasiques, qui proviennent uniquement du constituant chromonémique, dans lequel se forme, avant (Vejdowsky) ou après (Bonnevie, Kaufmann), une nouvelle „matrix".

La majorité des partisans de la théorie chromonémique, malgré les différences fondamentales dans leurs interprétations de l'évolution

de l'élément chromonémique, s'accorde à affirmer la continuité génétique des transformations du substratum achromatique (Schneider 1910, Martens 1922, 1925, 1928, Kuwada 1926, 1927, Szakien 1928, Sharp 1929, Bělař 1929, Koerperich 1930).

Il est évident que certaines différences entre les théories de ces deux principaux groupes d'auteurs ont leur origine surtout dans interprétation différente des images microscopiques. Mais c'est, peut être, la confiance optimiste, qu'ont les auteurs du premier groupe dans les méthodes de fixation, qui joue le rôle prépondérant. Les observations vitales, recommencées ces dernières années, et les méthodes améliorées de fixation, ont décidé cette question: la théorie chromonémique est la seule admissible aujourd'hui.

Passant à la discussion des interprétations actuelles de l'évolution de l'élément chromonémique et omettant à présent les considérations purement théoriques de Kuwada (1926, 1927) et de Sakamura (1927) qui, dans des parties principales, ne sont pas basées sur leurs propres observations, il faut se rendre compte des différences fondamentales entre les conceptions de Martens (1922, 1925, 1928) et de Koerperich (1930) d'un côté, et les résultats des recherches de Kaufmann (1925, 1926 a, 1926 b), de Sharp (1929) et ceux de mes propres observations vitales (Teleżyński (1930 a, 1930 b) de l'autre.

Kaufmann, Sharp et Teleżyński expliquent tout le cycle des transformations de l'élément chromonémique uniquement par les *changements dans l'arrangement* à l'intérieur du chromosome *des deux filaments chromonémiques*, se dédoublant longitudinalement à la fin de la prophase et conservant toujours leur continuité morphologique.

D'autre part, d'après Martens et Koerperich le cycle évolutif du chromonéma consiste, tout d'abord, en *transformations dans l'emplacement de la substance chromonémique.* Martens affirme que l'élément chromonémique des chromosomes, pendant la prophase, la métaphase et l'anaphase, a la forme d'un filament interrompu, disposé en zigzag. La substance de ce chromonéma, arrangé en zigzag, est divisée, pendant la prophase, entre deux chromosomes-fils par une „répartition bilatérale", autrement dit, par plusieurs divisions transversales et accidentelles. Pendant la durée des transformations télophasiques, la substance d'un filament chromonémique simple se place le long des deux bords de la bande achromatique, sous forme de deux filaments joints en une échelle irrégulière par des tractus

transversaux, et au début de la prophase se concentre en un zigzag simple, irrégulier, accidentellement rompu.

D'après Koerperich, l'élément chromonémique des chromosomes, pendant la télophase et pendant l'interphase, a la forme d'un réseau placé principalement dans la région superficielle du substratum achromatique cylindrique. Au début de la prophase la substance de ce réseau et le substratum achromatique se concentre, d'une façon mal définie, en un filament simple. La substance chromonémique de ce filament se répartit, ensuite, le long de deux lignes latérales formant ainsi des chromonémas-fils qui, après la division du substratum achromatique, s' arrangent en zigzags irréguliers à l'intérieur des chromosomes-fils. L'auteur ne sait pas qu'elle est la structure des chromosomes mûrs, homogènes selon l'apparence, et il ne peut pas décider la question de quoi et de quelle manière se forme l'élément chromonémique des chromosomes télophasiques.

Comme il résulte de ce que je viens de dire, nous nous trouvons en face de deux interprétations fondamentalement différentes du caractère d'évolution de l'élément chromonémique. La décision de cette alternative est de grande importance non seulement pour la compréhensibilité du mécanisme des transformations de la structure des chromosomes, mais également pour la théorie chromosomique de l'hérédité (comparez Wilson 1925 p. 893 et suiv., Sharp 1926 p. 169). Les résultats de mes observations vitales sur les transformations de la structure des chromosomes somatiques décident cette question au profit de la première interprétation; car il en résulte que le cycle des transformations de l'élément chromonémique consiste en les transformations dans l'arrangement des deux filaments chromonémiques, se dédoublant en longueur à la fin de la prophase et conservant leur autonomie morphologique à l'état de repos.

L'objet des recherches, le matériel et la technique.

Les transformations de la structure des chromosomes, pendant la caryocinèse somatique, chez des plantes possédant des noyaux riches en caryotine sont l'objet des recherches de ce travail. Je ne touche pas ici questions qui ne sont pas directement liées avec mon sujet; je ne m'occupe donc pas de la naissance et du rôle des nucléoles, ni du cours de la caryocinèse et de la cytocinèse comme ausssi des questions s'y rattachant.

L'objet principal de ces recherches était un méristème de racine d'*Haemanthus Katharinae (Amaryllidaceae).*

Les observations supplémentaires ont été faites sur un méristème radiculaire d'*Haemanthus albiflos* et de *Vicia Faba (Papilionaceae)*. Comme matériel comparatif, sur lequel j'ai pu confirmer les resultats principaux de mes recherches, m'ont servi des racines d'*Allium cepa (Liliaceae)* et de *Fodophyllum peltatum (Berberidaceae)*.

Je fixais le matériel avec différents liquides: le liquide fort de Flemming et ses modifications sans acide acétique, ou avec une quantité diminuée de cet acide, comme le liquide de Benda, d'après la prescription de Sharp (1914); les liquides de Němec (1929), Nawaschin, Bouin, Juel d'après les mòdifications de Schaede (1927), Merkel et quelques autres.

J'observais avec précision l'influence de chaque fixateur et je la comparais à l'influence des autres. Me basant sur cette méthode comparative et analytique, j'ai pu déterminer, indépendamment des observations vitales faites en même temps, le cycle des transformations de la structure des chromosomes, se couvrant complètement avec les résultats des recherches sur le matériel vivant. Je dois souligner, toutefois, que je n'ai commencé les observations vitales sur la caryocinèse somatique que lorsque me basant sur l'analyse du matériel fixé, seulement commencée alors, je ne savais pas encore comment expliquer les transformations de la structure des chromosomes et que c'est seulement pendant ces recherches sur les cellules vivantes que j'ai pu observer les caractéristiques évidentes de la structure des chromosomes et de ses évolutions. Je trouve que parmi les fixateurs que j'ai essayés les meilleurs sont: le liquide de Němec et la modification du liquide de Flemming sans acide acétique avec une addition de l'urea.

Les préparations ont été colorées avec l'hematoxyline ferrique de Heidenhein selon la méthode ordinaire et abrégée (B. Lee 1920). J'ai fait grande attention à la différentiation avec l'alun, en comparant les préparations peu décolorées avec les préparations plus décolorées, pour me rendre compte des déformations des structures, provenant d'une accumulation excessive ou irrégulière du colorant.

Les dessins ont eté exécutés à l'aide d'un prisme à dessiner de Zeiss, me servant de l'objectif apochromatique 1·5 *mm* de Zeiss, et de l'oculaire comp. 20 ×.

La majorité des dessins a été faite par agrandissement de 2.500 fois au niveau de la platine du microscope, et le reste des dessins — au niveau de la table à travail par agrandissement de 4.500 fois.

Les observations.

L'anaphase.

Les chromosomes qu'on voit sur les dessins 1—9, Pl. V, ne sont pas homogènes, mais composés du substratum achromatique moins coloré et des filaments chromonémiques plus colorés. Les substratum achromatique ou „matrix" du chromosome est homogène et cylindrique et donne la forme à tout le chromosome. Dans sa partie extérieure sont enfoncés deux filaments chromonémiques spiralés, enroulés l'un autour de l'autre.

Le plus souvent, ces filaments sont entrelacés assez régulièrement (dess. 2, 3, 4, 6, Pl. V), parfois leurs replis sont moins réguliers — il sont en zigzags (dess. 7, Pl. V), et en une partie du chromosome ces filaments peuvent parcourir latéralement l'un tout près de l'autre (dess. 8, Pl. V). Vers la fin de l'anaphase, à mesure que les chromosomes se raccourcissent et s'épaississent, les replis des filaments chromonémiques se disposent d'une manière plus compacte et plus irrégulière (comparez les dessins 2 et 6 avec le dessin 8, Pl. V).

Il est évident que la structure, que je viens de décrire plus haut, n'est visible que sur des préparations bien fixées et convenablement colorées. Si la différentiation n'est pas suffisante les chromosomes sont colorés d'une façon égale, car la substratum achromatique des chromosomes anaphasiques retient le colorant assez bien pour rendre invisibles les chromonémas, dont la présence est indiquée par de petits rétrécissements du chromosome répondant aux points de croisement des filaments enroulés l'un autour de l'autre (dess. I, Pl. V). La décoloration trop forte ou irrégulière pendant la différentiation mène à une décoloration partielle des filaments chromonémiques, dont les parties colorées font alors l'impression de chromomères irrégulièrement placées ou de zigzags brisés, comme on le voit sur le dess. I et 5, Pl. V, aussi que sur le dess. B, C, et D, Pl. V, de Sharp (1914) ou bien sur des photographies et des dessins de Kuwada (1926).

Kuwada (1926, 1927) considère des aspects pareils comme la structure naturelle des chromosomes, et il trouve que les chromosomes anaphasiques de *Vicia Faba* comprennent une spirale chromonémique simple. Les aspects des deux spirales enroulées l'une autour de l'autre se forment, d'après lui, partiellement comme cause d'une mauvaise fixation et partiellement lorsque les replis de la spirale sont assez serrés — comme une illusion optique (Kuwada 1927 p. 104).

Mais les dessins et les photographies de cet auteur ainsi que ses arguments ne sont pas convaincants. Il est difficile d'attribuer à l'illusion optique la structure qu'ont les chromosomes que je présente sur les dessins 2, 3 et 4, Pl. V, où l'on voit nettement les extrémités libres des deux filaments chromonémiques et où les filaments qui se croisent se trouvent l'un au dessus de l'autre, ce que j'ai pu constater en maniant la vis micrométrique. Il est encore plus difficile de se rendre compte de quelle manière ces deux filaments mollement entrelacés pourraient se former d'une spirale simple sous l'influence d'un fixateur. D'ailleurs, les résultats de mes recherches vitales décident de cette question (Teleżyński 1930 a, p. 388, 418—419).

La télophase.

Les transformations de la structure des chromosomes pendant la télophase sont à voir sur les dess. 10—19, Pl. V, et dess. 20—24, Pl. VI.

A mesure que la reconstruction des noyaux progresse, le substratum achromatique se colore de moins en moins et semble se disperser dans la substance qui remplit les espaces interchromosomiques pendant le tassement polaire. Cette substance interchromosomique (substance „parachromosomique" de Koerperich, ou „paragenoplastin" de Bleier 1930 b) est probablement une partie de la substance du fuseau, comme l'a supposé de Litardière (1921) et comme l'ont généralisé récemment, se fondant sur lex travaux de Dévisé (1922) et de Robyns (1924, 1926, 1929) et sur leur propres observations Martens (1929), Koerperich (1930) et Bleier (1930 a, 1930 b).

Sur la bordure du cytoplasme et de la caryolimphe se forme une membrane nucléaire sous forme d'une fine membrane limitrophe qui est difficilement perceptible sur le matériel fixé avec le liquide de Benda (dess. 11, Pl. V, et dessin 23, Pl. VI), mais nettement visible après la fixation par le liquide de Němec (dess. 16 et 18, Pl. V). Il est probable que les chromosomes méta- et anaphasiques ont une membrane limitrophe pareille sur la surface du substratum achromatique ce que démontre le dess. 5, Pl. V, ainsi que les observations antérieures des auteurs (Janssens 1901, de Litardière 1921, Martens 1922, Kaufmann 1926 a, Clausen 1929) et les considérations théoriques de Bridges (Alexander 1928).

Grâce à ces transformations du substratum achromatique, dont je viens de parler, les filaments chromonémiques sont beaucoup mieux

visibles pendant la télophase que pendant l'anaphase. Immédiatement après le tassement polaire apparaissent parmi ces filaments de fines anastomoses, qui lient les chromosomes voisins à travers l'espace interchromosomique (dess. 11—15, Pl. V). Ensuite apparaissent des anastomoses intrachromosomiques parcourant parmi les filaments chromonémiques et reliant la membrane nucléaire avec ces filaments. (Kaufmann 1926 a, p. 66).

De quelle manière se forment ces anastomoses, — je ne le sais pas. Les observations que j'ai faites jusqu'à présent sur des cellules vivantes et sur du matériel fixé n'ont pas encore éclairci cette question. Il est certain que les anastomoses se forment de la substance chromonémique et qu'en reliant les filaments chromonémiques entre eux, ou en reliant la membrane nucléaire avec les filaments chromonémiques, ils ont toujours la forme de fils droits et minces. Je n'ai jamais vu d'anastomoses embranchées en réseau, comme les dessine Sharp dans son dernier mémoire (dess. 10 et 15, Pl. XXII et schema sur la p. 354). J'ai vu, cependant, des images semblables au dess. 15 de Sharp, sur mes propres préparations, après une différentiation trop forte avec l'alun, et je sais qu'ils apparaissent par suite d'une décoloration partielle des filaments chromonémiques.

Au début des transformations télophasiques les filaments chromonémiques sont entrelacés d'une manière assez serrée (dess. 10—13, Pl. V) comme pendant l'anaphase. Plus tard, leurs replis se redressent partiellement et les filaments s'arrangent plus lâchement et moins régulièrement (dess. 14—19, Pl. V et dess. 22—24, Pl. VI) ne perdant néanmoins pas le caractère cylindrique de leur structure, comme le démontrent les coupes transversales et obliques des „bandes chromosomiques“ (dess. 20 et 21, Pl. VI; comparez Kaufmann 1926 a, p. 67, et Koerperich 1930, p. 319). La dernière étape des transformations télophasiques est l'allongement et le rétrécissement des filaments chromonémiques qui continuent à être irrégulièrement entrelacés.

Je n'ai pu observer des écarts aussi grands et aussi fréquents que le mentionne Sharp (1929, p. 358—359) dans l'emplacement des deux filaments formant le squelette chromonémique du chromosome pendant la télophase, et je ne crois pas qu'il se forme fréquemment, pendant les transformations télophasiques, des zigzags apparemment simples, malgré que les deux filaments chromonémiques peuvent se trouver à une certaine longueur l'un à côté de l'autre (dess. 18, Pl. V). Les filaments, posés de cette façon, peuvent se coller, sous l'influence du fixateur, en un filament qui

paraît simple, leur duplicité peut être aussi masquée par une accumulation excessive du colorant. Il se peut que les zigzags simples dans des chromosomes télophasiques de *Listera* dessinés par Martens (1925) sur la fig. 34, 36, 37 se sont formés de la même manière. Les autres figures des chromosomes télophasiques de *Listera* présentent, à mon avis, des filaments chromonémiques irrégulièrement décolorés et enroulés l'un autour de l'autre, ce qui est nettement perceptible sur le dess. 39, 40, 41 - D. J'ai rencontré fréquemment sur mes préparations des images pareilles aux dess. 37, 38 et 41 A, B, C, E de Martens (1925) et je suis convaincu qu'elles proviennent d'une décoloration irrégulière (comparez dess. 22, Pl. VI).

Pour me rendre compte des interprétations de Koerperich j'ai examiné avec soin les protubérances saillantes sur le contour des noyaux télophasiques, dont l'analyse est la base principale dans la conception de cet auteur. J'ai présenté avec précision la structure de ces protubérances sur le dess. 16—18, Pl. V, qui représentent leur vraie structure visible sur les péperations pendant la manipulation avec la vis micrométrique, et non leur coupe dans un plan optique. Comme on voit sur le dess. 16 et 17, Pl. V, l'élément chromonémique de ces protubérances se compose de deux filaments spiralés, entrelacés irrégulièrement. Les filaments chromonémiques sont placés sur le pourtour des protubérances et liés par de minces anastomoses. Le dessin 18 présente deux paires de filaments chromonémique irrégulièrement entrelacés. Il est évident que les protubérances contenants deux filaments chromonémiques présentent une extrémité d'un chromosome, tandis que les protubérances telles qu'on les voit sur le dess. 18, Pl. V, devaient se former, sans doute, d'une transformation des parties extérieures des deux chromosomes intimement rapprochés. J'ai l'impression que Koerperich n'y a pas fait assez attention et que pendant ses recherches sur la structure des chromosomes pendant la télophase et au début de la prophase l'auteur ne s'est pas rendu compte des différences parmi les filaments chromonémiques et les anastomoses, qui chez les objets de ses recherches sont peut être plus nombreuses que sur mon matériel.

L'interphase.

Les dessins 25 et 26, Pl. VI, montrent la structure des noyaux interphasiques.

Les noyaux dont j'ai représenté une petite partie sur ces dessins se trouvaient dans l'interphase typique et possédaient, à première vue, un aspect filamenteux-réticulé. Une analyse détaillée démontre

qu'on n'a pas ici à faire à un réseau régulier mais à un pelotonnement de filaments chromonémiques entrelacés par paires et joints par de minces anastomoses, comme on le voit sur le dess. 25, Pl. VI, qui présente la structure d'une partie de la surface du noyau, après la fixation avec la modification du liquide fort de Flemming sans acide acétique, ou sur le dess. 26, Pl. VI, représentant une partie intérieure de la structure du noyau fixé avec le liquide de Němec. Les filaments chromonémiques sont souvent entrelacés d'une façon irrégulière (dess. 25 a, Pl. VI), et il en resulte que deux tractus voisins se collent quelquefois, sous l'influence du fixateur, en un filament simple (dess. 25 b, 26 a, Pl. VI). Les conglomérations dans des points de croisement des filaments sont beaucoup plus fréquents. Dans des noyaux bien fixés, on rencontre très peu de noeuds de ce genre; les filaments chromonémiques sont homogènes, sans empâtements granulaires et colorés également.

Les anastomoses sur du matériel bien fixé et bien coloré sont minces et diffèrent nettement des filaments chromonémiques. Les noyaux trop colorés ont une structure plus égale et il est parfois difficile d'en distinguer les filaments chromonémiques des anastomoses épaissies. Par suite d'une décoloration inégale du réseau nucléaire, pendant la différentiation, il se forme des images pareilles à celles présentées par exemple par Sharp (1929), dess. 15, ou par Martens (1925), dess. 43 et 44.

La structure des noyaux interphasiques, décrite plus haut, fondée sur l'analyse du matériel fixé, correspond entièrement aux résultats de mes observations vitales, sur lesquelles me basant j'ai interprété la structure des noyaux au repos comme un „enchevêtrement des filaments chromonémiques disposés par paires, plus ou moins irrégulièrement ou spiralement enroulés l'un autour de l'autre, selon toute probabilité, liés par des anastomoses très fines et peu parceptibles" (Teleżyński 1930 a, p. 405).

Dans mon mémoire précédent je traite avec plus de détails le cas de la structure des noyaux riches en caryotine, et je prouve que ces noyaux ont „in vivo" une structure filamenteuse-réticulée, conformément aux résultats des observations de Strasburger (1882), Kny (1886), Behrens (1890), de Litardière (1921), Chodat (1924), Martens (1925, 1927, 1929), Scarth (1927), Eichhorn (1928). Les derniers travaux de Bělař (1929, 1930) et de Eichhorn (1930) nous en donnent de nouvelles preuves.

Mes dernières recherches expérimentales sur la structure des noyaux dans les poils staminaux de *Tradescantia virginiana* ont fourni

des preuves ultérieures. Il s'agissait de ce que — si mon avis sur la structure des noyaux est juste, si ce que nous appelons le réseau nucléaire se compose de filaments chromonémiques entrelacés deux par deux et reliés par de minces anastomoses — cette structure devrait se révéler alors beaucoup plus distinctement pendant le „reversible Entmischung" que Bělař (1930) a provoqué sur le même matériel, sous l'influence des stimulants mécaniques et chimiques. Ces suppositions se sont confirmées entièrement: pendant la coagulation reversible des noyaux sous l'influence de l'acide acétique dilué, dans le réseau apparemment uniforme des noyaux interphasiques (de même que dans les noyaux à l'état de repos définitif), s'accentuent, de plus en plus nettement, des territoires chromosomiques, dont chacun se compose de deux filaments chromonémiques irrégulièrement entrelacés. Ce phénomène dépend probablement du resserrement des filaments chromonémiques par suite de l'„aktive Entquellung" de la caryotine causé par l'action de l'acide acétique (comparez Bělař 1930, p. 23).

La prophase.

La différentiation des chromosomes au début des transformations prophasiques est sans doute liée avec le rétrécissement des filaments chromonémiques et avec le condensement des replis des spirales, ce qui mène à une séparation de vastes territoires chromosomiques, composés de deux filaments chromonémiques entrelacés irrégulièrement d'une manière serrée (dess. 27—35, Pl. VI). J'ai tâché de représenter sur ces dessins, aussi exactement que possible, la structure des chromosomes dans ce stade, car sa connaissance détaillée est essentielle pour la compréhension des stades ultérieurs des transformations de la structure des chromosomes.

L'analyse de la structure des chromosomes au début de la prophase est longue et difficile. Il est presque impossible d'éviter les „artefacts" vitales et des altérations pendant la fixation; il n'est pas aisé d'examiner la structure des chromosomes, même sur du matériel bien fixé, car la densité des pelotes des spirales chromonémiques rend quelquefois difficile l'étude du cours du filament sur une trajet plus long. Ces dessins que j'ai choisis ici permettent néanmoins de s'orienter dans l'emplacement des filaments chromonémiques. Le plus fréquemment ces filaments chromonémiques ont la forme de larges spirales avec des replis serrés et ils sont lâchement entrelacés l'un autour de l'autre (dess. 28—30, 33—35, Pl. VI). Il arrive quelquefois que leur arrangement est moins régulier, les replis des filaments

sont plus brusques et certains tractus parcourent latéralement l'un à côté de l'autre se collant souvent pendant la fixation en un filament simple (dess. 27, 31, 32, 33, Pl. VI). Simultanément avec la différentiation des filaments chromonémiques, que je viens de décrire, se différencie de la caryolimphe la substance achromatique en formant des substratums faiblement colorés des chromosomes isolés.

Les anastomoses reliant les squelettes chromonémiques des chromosomes interphasiques en un réseau nucléaire se rompent partiellement au debut des transformations prophasiques; mais une grande partie persiste et ne disparait que vers la fin de la prophase.

Les vastes territoires chromosomiques isolés au début de la prophase se transforment ensuite en des chromosomes longs et minces, arrangés en spirales ou en zigzags irréguliers (dess. 39—49, Pl. VII). Vu la différence fondamentale des interprétations de Kaufmann (1926 a, 1926 b) et de Sharp (1929), d'un côté, et de Martens (1922, 1925, 1928) et de Koerperich (1930) de l'aute côté, j'ai apporté une attention spéciale à cette transformation. Mes recherches ont confirmé, ici encore, la justesse des interprétations des auteurs américains. L'évolution de l'élément chromonémique, pendant la différentiation de minces filaments chromonémiques zigzagués, ne consiste pas en la concentration de la substance chromonémique suivant une ligne maîtresse zigzaguée; la fonte d'une partie de l'élément chromonémique dans le substratum achromatique que mentionne Koerperich (1930, p. 379) ne l'accompagne pas, non plus. Les chromosomes dans ce stade se composent, comme auparavant, de deux filaments chromonémiques entrelacés, parcourant très près l'un de l'autre, et enfoncés dans la „matrix" qui se place le long des filaments chromonémiques. Il est évident que la duplicité des filaments chromonémiques dans ce stade peut être constatée seulement sur matériel très bien fixé. Une convenable differentiation des préparations, qu'il faut très fortement décolorer pour l'analyse du dolichonéma, joue aussi un rôle très important.

C'est ainsi que grâce à la constatation de Kaufmann (1926 a, 1926 b) et de Sharp (1929) sur le matériel fixé, de la duplicité du chromonéma dans ce stade, ce que j'ai confirmé ensuite sur le matériel vivant (Teleżyński 1930 a, p. 186, dess. 6, Pl. XXIV), toutes les données affirmant que les chromosomes dans le stade de filaments minces en zigzags sont simples et uniformes, ou qu'ils contiennent un chromonéma simple, perdent toute l'importance théorique qu'on leur attribue.

Pour se rendre compte de la manière dont les chromosomes

gros et cylindriques, isolés au début de la prophase, se transforment ensuite en chromosomes minces et arrangés en zigzags, comparons avec détails les dessins qui se rapportent à ces stades. La différence entre les chromosomes en spirales reproduits sur le dess. 46 et 47, Pl. VII, et les „bandes prophasiques" présentées sur les dess. 27 et 28, Pl. VI, consiste premièrement en un différent arrangement des chromonémas enroulés l'un autour de l'autre. Tandis que sur les dess. 27 et 28, Pl. VI, les deux spirales chromonémiques sont arrangées aussi lâchement que possible, comme si elles se repoussaient réciproquement, ici, sur les dess. 46 et 47, Pl. VII, ces même spirales, conservant presque la même forme et la même densité des replis, sont placées tout près l'une de l'autre. Le dess. 37, Pl. VI, présente le stade intermédiaire de ce changement de l'arrangement des filaments chromonémiques spiralés. A côté des changements dans l'arrangement réciproque des filaments chromonémiques à l'intérieur du chromosome, il entre aussi dans le jeu le redressement des replis des spirales chromonémiques, qui commence quelquefois assez tôt (dess. 32 a, 33 a, 36 b, Pl. VI). A cause de ce redressement des filaments chromonémiques les chromosomes en spirales ou en zigzags se redressent graduellement et s'allongent (dess. 41 a, 45, 48, 49, Pl. VII). Le condensement et le changement d'emplacement de la substance achromatique qui se place le long du chromosome accompagne toutes ces transformations.

Mais bientôt les chromosomes entrent dans une longue phase de raccourcissement qui dure à travers la prophase, la métaphase et l'anaphase jusqu'au début des transformations télophasiques. Pendant la première phase, le raccourcissement des chromosomes ne cause pas de changements importants dans leur structure, car il consiste probablement en un raccourcissement des filaments chromonémiques et en une concentration de la „matrix". En même temps le procès de redressement des replis spiralés et des courbes zigzagantes des chromosomes progresse (dess. 50—57, Pl. VII). Les filaments chromonémiques s'arrangent plus lâchement dans le substratum achromatique et graduellement se détressent (dess. 58—60, Pl. VII, et dess. 61, 62, Pl. VIII). Le procès de dénouement des filaments chromonémiques entrelacés, qui commence maintenant, durera jusqu'à la fin de la métaphase et conduira à une isolation complète des chromosomes-fils.

Après le relâchement des filaments chromonémiques, on voit dans les espaces intrachromosomiques des anastomoses minces, reliant les chromonémas enroulés l'un autour de l'autre (dess. 56, 58, 59, Pl. VII, dess. 62—80, Pl. VIII). Ces anastomoses sont d'habi-

tude minces, et ne diffèrent en rien des anastomoses interchromosomiques. La majorité disparaît pendant la prophase avancée, mais une partie persiste d'habitude jusqu'à la fin de la métaphase (dess. 78—80, Pl. VIII). Je ne peux rien dire de certain sur la manière dont se forment ces anastomoses intra- et interchromosomiques. Il en résulte quand même de mes recherches, que sur du matériel bien fixé il y a plus d'anastomoses intrachromosomiques et des filaments d'unions interchromosomiques que sur des préparations moins bien fixées; et dans des cellules vivantes il y en a bien plus que sur les préparations les mieux fixées, particullièrement au milieu de la prophase, ce que j'ai observé pendant mes dernières recherches vitales, non encore publiées, sur l'albumen d'*Haemanthus Katharinae.* Ces faits semblent parler au profit des interprétations de Kaufmann (1926 a, p. 75, 1926 b, p. 362) qui explique la formation des anastomoses par un relâchement de protubérances filamenteux, par des chromonémas, conformément aux résultats des observations vitales de Lewis et Levis (1924) et avec les suppositions de Boveri (1887, p. 819), Němec (1899, p. 330) et d'autres. Cette question est encore loin d'une solution définitive et elle ne peut être résolue que par des recherches sur des cellules vivantes.

A mesure du progrès du racourcissement des chromosomes au milieu et à la fin de la prophase, les filaments chromonémiques commencent à se rouler en zigzags (dess. 63—67, Pl. VIII) et, en même temps, les deux filaments chromonémiques se plient de la même façon en accordéon (dess. 67 et 68), pareillement aux descriptions de Martens (1922, p. 352, 1925, p. 134) et Koerperich (1930, p. 322, 348—349). Il se peut que l'enroulement des filaments chromonémiques est causé par le raccourcissement de la „matrix" par suite de la condensation de la substance achromatique. Les grandes difficultés liées avec les observations de l'élément achromatique pendant la prophase font obstacle à l'éclaircissement de cette question. Le substratum achromatique, au début et au milieu de la prophase, se fixe mal, irrégulièrement, il se colore faiblement et „in vivo" est difficilement perceptible, ce qui rend difficile l'examen exact de son emplacement. Il est pourtant certain, qu'au milieu de la prophase les deux chromonémas sont enfoncés dans un substratum commun et homogène (dess. 64—67, Pl. VIII). Les observations sur le matériel vivant indiquent que la „matrix", pendant les transformations prophasiques, a une forme cylindrique et qu'elle ne se divise definitivement que pendant la métaphase (Bělař 1929, Teleżyński 1930). On peut observer sur le matériel fixé que pendant la prophase

tardive le substratum achromatique commence à s'accumuler le long des deux filaments chromonémiques (dess. 68—71, Pl. VIII), et que vers la fin de la prophase il est d'habitude sujet à une division longitudinale définitive (dess. 76, 77, Pl. VIII); mais il arrive quelquefois encore que, pendant la métaphase, les chromosomes-fils sont liés par la substance de substratum achromatique (dess. 79—80, Pl. VIII).

Pendant la prophase avancée, les filaments chromonémiques, pliés en zigzags, s'entortillent en spirales irrégulières, enfoncées dans le substratum achromatique des chromosomes-fils (dess. 68, 69, Pl. VIII). Pendant l'entortillement consécutif des chromonémas apparaît leur duplicité: chaque filament chromonémique est nettement dédoublé en deux chromonémas-fils, entrelacés spiralement l'un autour de l'autre (dess. 70—77, Pl. VIII).

Les filaments chromonémiques se dédoublent probablement beaucoup avant leur entortillement en spirales, mais ce dédoublement n'est visible sur des préparations que pendant la prophase avancée. La duplicité du chromonéma est quelquefois trés nette (dess. 71 a, 74, 75, 76 a, 77, Pl. VIII). Habituellement, elle est masquée par une forte coloration de la „matrix", par suite de quoi il se forme quelquefois une sorte de structure chromomérique (dess. 76 a, 80, Pl. VIII). Les retrécissements entre ces chromomères se forment sur des points de croisement des chromonémas entrelacés. La structure des chromosomes est visible, le plus nettement, dans ce stade, sur le matériel fixé avec le liquide de Němec. Sur des préparations fixées avec le liquide de Benda, elle est moins visible à cause d'une décoloration irrégulière des chromosomes en premier lieu (dess. 72, 78, 80, Pl. VIII). On peut la voir quelquefois même après la fixation avec le liquide de Flemming (dess. 73 et 74, Pl. VIII), après quoi les chromosomes-fils ont, d'habitude, la forme de cylindres homogènes et régulièrement colorés.

Vers la fin de la prophase, la „matrix" se divise définitivement entre deux chromosomes-fils, dont chacun se compose dès lors de son propre substratum achromatique et de deux filaments chromonémiques spiralés, entrelacés l'un autour de l'autre et enfoncés dans la substance achromatique (dess. 76, 77, Pl. VIII).

La métaphase.

Pendant les transformations métaphasiques les chromosomes-fils continuent à se raccourcir et à grossir, ce qui cause que les replis des spirales chromonémiques deviennent de plus en plus serrés (dess.

78—81), Pl. VIII). On ne voit cette structure que sur des préparations assez différenciées, après une décoloration de la „matrix" fortement chromatophile. Chez toutes les plantes examinées pendant mes recherches, les chromosomes-fils ont, à la métaphase et à l'anaphase, une forme cylindrique, ce qui est difficile de concorder avec l'arrangement des chromonémas tel que le cite et que le dessine Sharp chez le *Trillium* (Sharp 1929, p. 356, 374—375, dess. 3, Pl. XXII et dess. 52—54, Pl. XXIV). Si l'interprétation de l'auteur est juste, et nous n'avons pas ici à faire à des chromosomes alterés pendant la fixation, aplatis et repliés, ayant après cette altération une écorce se colorant plus sensiblement et une moëlle moins colorée — ce que je crois le plus probable, — ce serait un cas exceptionnel, qu'il ne faut pas généraliser.

Vers la fin des transformations métaphasiques les chromosomes-fils, jusqu'à ce moment enroulés l'un autour de l'autre, se détressent définitivement. Le détressement des chromosomes-fils à la fin de la prophase et pendant la métaphase est la continuation du détressement des filaments chromonémiques qui a son début dans la prophase précoce.

Les conclusions.

I.

Il résulte de mes recherches sur la structure des chromosomes somatiques chez les plantes possédant des noyaux riches en caryotine, que les chromosomes se composent de deux éléments morphologiquement distincts, notamment: d'un substratum achromatique homogène et de deux filaments chromonémiques enfoncés dans la „matrix" achromatique et entrelacés l'un autour de l'autre. Sur des schèmas ci-inclus, je présente le cycle des transformations de ces deux constituants pendant la caryocinèse.

L'évolution de l'élément chromonémique consiste principalement en des transformations de l'arrangement de ces deux filaments chromonémiques qui conservent leur autonomie morphologique et leur continuité génétique pendant tout le cycle évolutif, et qui se divisent longitudinalement au milieu de la prophase.

Les filaments chromonémiques sont homogènes et rien n'indique qu'ils aient une structure chromomérique que leur attribuent Kuwada (1926, 1927) et Belling (1928 a, 1928 b). Ils peuvent quand même être différenciés en „euchromatine" et „hétérochromatine" dans le sens que Heitz (1928) attribue à ce terme, ralativement à toute la substance chromosomique. Je n'ai pas fait de recherches spéciales

à ce sujet. Les conclusions des observations vitales sur la structure des noyaux au repos définitif, chez le *Vicia Faba*, et des observations isolées sur la structure des chromosomes de cette même plante sur du matériel fixé (dess. 19, Tabl. V, dess. 46, Tabl. VII) semblent confirmer la théorie de Heitz.

Les transformations de l'élément achromatique se manifestent, tout d'abord, par la dispersion de sa substance pendant la télophase et dans sa concentration pendant la prophase, à la fin de laquelle la „matrix“ subit à une division longitudinale entre deux chromosomes-fils. Les résultats de mes recherches faites jusqu'à présent ne me permettent pas de décider si l'élément achromatique des chromosomes conserve son autonomie dans les noyaux au repos.



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Fig. 34. Cycle évolutif du chromosome somatique. Fig. 1—6: prophase, Fig. 7: métaphase, Fig. 8: anaphase, Fig. 9: télophase, Fig. 10: interphase.

Il est probable que le raccourcissement et le grossissement des chromosomes, pendant la prophase, la métaphase et l'anaphase, sont causés par le raccourcissement du substratum achromatique du chromosome, qui se condense. Ce raccourcissement a comme conséquence l'enroulement en spirales des filaments chromonémiques élastiques, enfermés dans la „matrix“ achromatique (comparez Bridges: Alexander 1928, Belling 1928, p. 341, Kuwada 1926, p. 5, 1927, p. 105, Sharp 1929, p. 371, Maeda 1930, p. 97, Sax 1930, p. 199—201). La justesse de cette hypothèse semble être confirmée par le fait qu'en se basant sur elle on peut expliquer la cause de l'entrelacement, apparemment mystérieux, des deux chromonémas dans le chromosome.

Tout semble indiquer que les chromonémas se dédoublent au milieu de la prophase avant l'entortillement en spirales (comparez

Kaufmann 1926b, p. 360, Sharp 1929, p. 372—373), malgré que ce dédoublement soit invisible sur des préparations dans ce stade, et qu'il ne soit visible que dans la prophase avancée. Ces chromonémas-fils sont au début arrangés latéralement l'un tout près de l'autre en une spirale apparemment simple (dess. 44, 45, 47, Pl. XXIV, de Sharp 1929) et ensuite ils sont spiralement entrelacés (dess. 28 de Kaufmann 1926b et mes dess. 70 et 71, Pl. VIII).

Posons latéralement très près, l'un de l'autre, deux fils de fer représentant les chromonémas-fils au milieu de la prophase, et tortillons les en une spirale irrégulière en faisant attention qu'ils ne changent pas leur arrangement parallèle — nous verrons alors, après le relâchement des fils de fer, qu'il s'est formé de cette manière deux spirales entrelacées de la même façon que les filaments chromonémiques dans des chromosomes-fils à la fin de la prophase et dans les stades suivants (comparez Grégoire 1899, pp. 249, 250 et Kuwada 1927, p. 102, expérience I). Cette expérience prouve que l'entrelacement des chromonémas-fils peut être le résultat de l'entortillement en spirale des chromonémas primaires, fendus longitudinalement.

Les résultats de l'entrelacement des chromonémas dans les chromosomes-fils qui peut sembler insignifiant, sont très importants. Les filaments chromonémiques enroulés l'un autour de l'autre à la fin de la prophase (dess. 75—77, Pl. VIII), demeurent dans le même état pendant la métaphase (dess. 81, Pl. VIII), l'anaphase (dess. 2—4, Pl. V) et la télophase (dess. 13—15, 19, Pl. V); ils sont entrelacés d'une pareille manière pendant l'interphase, au début des transformations prophasiques (dess. 27—29, 33—36, Pl. VI) et dans le zigzag apparemment simple (dess. 41—49, Pl. VII). Le détressement des filaments chromonémiques commence seulement au milieu de la prophase (dess. 56—60, Pl. VII, et 61—66, Pl. VIII), il continue pendant la transformation des filaments chromonémiques en élément chromonémique des chromosomes-fils (dess. 68—77, Pl. VIII) et finit définitivement par la libération des chromosomes-fils à la fin de la métaphase. Comme il en résulte, le mécanisme qui libère les chromosomes-fils, pendant la métaphase, consiste en leur dénouement, qui est la suite du relâchement des filaments chromonémiques dédoublés et entrelacés à la prophase de la division précédente. Ce qu'on appelle le clivage des chromosomes n'existe point: l'élément chromonémique des chromosomes se dédouble longitudinalement pendant la prophase

de la mitose précédente, et la „matrix" se divise à la fin de la prophase suivante, immédiatement avant le détressement définitif et avant l'écartement des chromosomes-fils.

II.

La théorie de la structure des chromosomes, basée exclusivement sur l'analyse des chromosomes somatiques, n'aurait pas de fondaments solides. On ne peut pas dire de même de la théorie chromonémique, ayant ses origines dans les observations de Baranetzky (1880), sur la structure des chromosomes hétérotypiques. Les données de Baranetzky ont été confirmées et complétées par de nombreux observateurs (Van Herverden 1910, Kaufmann 1925, 1926a, Kuwada et Sugimoto 1926, Kuwada et Sakamura 1926, Fujii 1926, Kuwada 1927, Sakamura 1927a, 1927b, Belling 1928, Inariyama 1928, Maeda 1928, 1930, Martens 1929, Babcock et Clausen 1929, Darlington 1929, Sax 1930, Shinke 1930, Kato 1930 etc.).

La structure „spirale" des chromosomes hétérotypiques a été constatée sur du matériel fixé chez quelques dizaines de plantes monocotylédones et dicotylédones, et les recherches vitales et expérimentales de Sakamura (1927a) et de Martens (1929) ont prouvé la réalité de cette structure. A l'heure actuelle il est certain que les chromosomes somatiques ainsi que les chromosomes meïotiques chez des plantes ayant des noyaux riches en caryotine se composent du substratum achromatique et de l'élément chromonémique.

Le cycle des transformations de la structure des chromosomes pendant la „meiosis" n'est quand même pas éclairci et il pourrait sembler qu'il est impossible de concorder la paraconjugation des chromosomes avec la duplicité de l'élément chromonémique dans les chromosomes, comme semble le croire Kuwada (1927, p. 105). Rien de tel. C'est grâce à la constatation de la duplicité de l'élément chromonémique dans chacun des chromosomes arrangés par paires, pendant la leptophase, la zygophase et la pachyphase, la paraconjugation a été définitivement prouvée (Robertson 1916, Kaufmann 1925, 1926b, Mc Clung 1927, 1928, Belling 1928a et b, Bělař 1928, Newton et Darlington 1929, Darlington 1929, Maeda 1930).

Les résultats, non encore publiés, de mes recherches sur le cycle évolutif des chromosomes meïotiques chez le *Fritillaria lutea* démontrent la conformité complète entre la structure des chromosomes hétérotypiques, homéotypiques et somatiques.

III.

Le cycle des transformations de la structure des chromosomes, présenté dans ce travail, s'accorde non seulement avec les résultats des observations sur du matériel vivant, mais aussi il satisfait à toutes les éxigeances de la théorie chromosomique de l'hérédité, si on suppose que les filaments chromonémiques sont la base matérielle des gènes. Si cette supposition est juste et si l'élément chromonémique des chromosomes est composé de deux chromonémas identiques, comme l'ont constaté les recherches de Kaufmann (1925, 1926 a, 1926 b), Earl (1927), Sharp (1929) aussi bien que mes propres observations sur du matériel vivant (Teleżyński 1930 a et b) et les résultats de ce travail, — il s'ensuit que dans les noyaux au repos chaque gène devrait être dédoublé en deux gènes identiques, mais indépendants. Ce fait fût constaté par Muller (1927).

Ce travail a été accompli à l'Institut de Botanique Générale de l'Université de Varsovie, sous la direction de M. le Professeur Zygmunt Wóycicki, à qui je dois une profonde reconnaissance, non seulement pour le vif intérêt qu'il portait au cours de mes recherches et pour ses conseils et indications qui s'ensuivaient, mais aussi pour les nombreuses preuves de sa grande bienveillance à mon égard.

Varsovie, Mai 1931.

Bibliographie.

Alexander, J. 1928. Colloid Chemistry, vol II. New. York.
Argyroudis, D. 1929. C. R. Soc. Biol. 102, p. 67.
Babcock, E. B., and Clausen, J. 1929. Univ. Cal. Publ. Agr. Sci. 2, p. 401.
Baranetzky, J. 1880. Bot. Zeitg. 38, p. 241.
Behrens, J. 1890. Bot. Zeitg. 48, p. 81.
Bělař, K. 1928. Die cytologischen Grundlagen der Vererbung. Berlin.
— 1929. Z. Zellfschg. mikr. Anat. 10, p. 73.
— 1930. Protoplasma 9, p. 209.
Belling, J. 1928 a. Univ. Cal. Publ. Bot. 14, p. 335.
— 1928 b. id., p. 307.
van Beneden. 1883. Arch. Biol. 4, p. 265.
Bleier, H. 1930 a. Z. Zellfschg. mikr. Anat. II, p. 218.
— 1930 b. Cellule 40, p. 83.
Bolles-Lee, A. 1920. Quart. J. micr. Sci. 65, p. 1.
Bonnevie, K. 1908. Arch. Zellfschg. I, p. 450.
— 1911. id. 6, p. 190.
— 1913. id. 9, p. 433.
Boveri, Th. 1888. Zellenstudien II. Jena.

Carruthers, D. 1921. Arch. Zellfschg. 15, p. 370.
Chodat, R. 1924. C. R. Soc. Phys. Hist. Nat. Geneve 41, p. 96.
Clausen, J. 1929. In Report of the 18 Scandinavian Naturalist Congress in Copenhagen, 26—31 Aug. 1929.
Conard, A. 1926. C. R. Soc. Biol. 94, p. 411.
Darlington, C. D. 1929a. Journ. Gen. 21, p. 207.
— 1929b. id., p. 17.
Dehorne, A. 1911. Arch. Zellfschg. 6, p. 613.
Devise, R. 1921. Cellule 32, p. 247.
Digby. 1910. Ann. Bot. 24, p. 727.
— 1912. id. 26, p. 357.
— 1914. Arch. Zellfschg. 12, p. 97.
— 1919. Ann. Bot. 33, p. 135.
Earl, R. O. 1927. Bot. Gaz. 84, p. 58.
Eichhorn, A. 1927. C. R. Soc. Biol. 97, p. 333.
— 1928. C. R. Ac. Sci. Paris 186, p. 778.
— 1929. Arch. Anat. micr. 25, p. 489.
— 1930. Rev. gen. Bot. 42, p. 449.
Fraser, H. C. I., and Snell, J. 1911. Ann. Bot. 25, p. 845.
Fujii K. 1926. Report of Japan. Sci. Congr. 2.
Granier, J., et Boule, L. 1911. C. R. Ac. Sci. Paris 151, p. 153.
Grégoire, V. 1899. Cellule 16, p. 233.
— 1906. Cellule 23, p. 309.
— 1913. C. R. Ac. Sci. Paris 156, p. 631.
Grégoire, V., et Wygaerts, A. 1904. Cellule 21, p. 5.
Heitz, E. 1928. Jahrb. wiss. Bot. 69, p. 762.
— 1929. Ber. d. d. bot. Ges. 47, p. 274.
van Herwerden, M. A. 1910. Anat. Anz. 36, p. 193.
Hof, C. 1898. Bot. Centralbl. 76, p. 65.
Inariyama, S. 1928. Bot. Mag. 42, p. 486.
Janssens, F. A. 1901. Cellule 19, p. 5.
Kato, K. 1930. Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Univ. 5, p. 139.
Kaufmann, B. P. 1925. Amer. Nat. 59, p. 190.
— 1926a. Amer. J. Bot. 13, p. 59.
— 1926b. id., p. 355.
Kny, L. 1886. Botanische Wandtafeln, Text p. 337. Berlin.
Koerperich, J. 1930. Cellule 39, p. 307.
Kuwada, Y. 1921. Bot. Mag. 35, p. 99.
— 1926. Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Univ. B. 2, p. 1.
— 1927. Bot. Mag. 41, p. 100.
Kuwada, Y., and Sakamura, T. 1926. Protoplasma 1, p. 239.
Kuwada, Y., and Sugimoto, T. 1926. Bot. Mag. 40, p. 19.
Lewis, W. H., and Lewis, M. R. 1924. In Cowdry, E. V. General Cytology, p. 383. Chicago.
de Litardière, R. 1921. Cellule 31, p. 253.
Lundegardh, H. 1910. Svensk Bot. Tidskr. 4, p. 174.
— 1912a. Jahrb. wiss. Bót. 51, p. 236.
— 1912b. Arch. Zellfschg. 9, p. 205.
Mc Clung, C. E. 1927. Journ. Morph. Physiol. 43, p. 181.

Mc Clung, C. E. 1928. Z. Zellfschg. 7, p. 756.
Maeda, T. 1928. Bot. Mag. 42, p. 191.
— 1930. Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Univ. B. 5, p. 89.
Martens, P. 1922. Cellule 32, p. 331.
— 1925. Cellule 36, p. 125.
— 1927. Cellule 38, p. 67.
— 1928. Bull. Histol. appl. 5, p. 229.
— 1929a. Cellule 39, p. 167.
— 1929b. Bull. Ac. Roy. Belgique, cl. d. Sci., 5 ser. 25, p. 160.
Merrimann, M. L. 1904. Bot. Gaz. 37, p. 178.
Müller, Cl. 1912. Arch. Zellfschg. 8, p. 1.
Muller, H. J. 1927. Verh. V. Intern. Kongr. Vererbwiss. Berlin 1927, I, p. 234.
Němec, B. 1899. Jahrb. wiss. Bot. 32, p. 313.
— 1910. Das Problem der Befruchtungsvorgänge und andere cytologische Fragen. Berlin.
— 1929. Protoplasma 7, p. 423.
Newton, W. C. F., and Darlington C. D. 1929. Journ. Gen. 21, p. 1.
Overton, J. B., 1922. Trans. Wisc. Ac. Sci. 20.
Reed, T. 1914. Ann. Bot. 28, p. 271.
Robertson, W. R. B. 1920. Anat. Rec. 17, p. 329.
Robyns, W. 1924. Cellule 34.
Robyns, W. 1926. Cellule 37.
— 1929. id. 39, p. 83.
Sakamura, T. 1927a. Protoplasma 1, p. 537.
— 1927b. Bot. Mag. 41, p. 59.
Sarbadhikari, P. C. 1927. Ann. Bot. 41, p. 1.
Sax, K. 1930. Journ. Arnold Arboretum II, p. 193.
Scarth, G. W. 1927. Protoplasma 2, p. 189.
Schaede, R. 1924. Beitr. Biol. Pfl. 14, p. 231.
— 1927. Protoplasma 3, p. 145.
— 1929. Erg. Biol. 5, p. 1.
Schneider, K. C. 1910. Festschr. f. R. Hertwig I. Jena.
von Schustow, L. 1913. Arch. Zellfschg. II, p. 340.
Sharp, L. W. 1914. Cellule 29, p. 297.
— 1920. Amer. J. Bot. 7, p. 341.
— 1926. An introduction to cytology. 2 ed. New. York.
Sharp, L. W. 1929. Bot. Gaz. 88, p. 349.
Shinke, N. 1930. Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Univ. B. 5. p. 239.
Strasburger, E. 1882. Arch. mikr. Anat. 21, p. 476.
Szakien, Br. 1927. Cellule 37, p. 369.
Tamura, O. 1923. Arch. Zellfschg. 17, p. 131.
Teleżyński, H. 1930a. Acta Soc. Bot. Pol. 7, p. 381.
— 1930b. C. R. Soc. Biol. 104, p. 167.
— 1930c. Spraw. z pos. Tow. Nauk. Warsz. IV. 23, p. 115.
Vejdovsky, F. 1911/1912. Zum Problem der Vererbungsträger. Prag.
— 1926/1927. Structure and developpment of the „living matter“. Prague.
Wassermann, F. 1929. Wachstum und Vermehrung der lebendigen Masse. Handbuch d. mikr. Anat. d. Menschen I. 2. Berlin.
Wilson, E. B. 1925. The cell in developpment and heredity. 3 ed. New York.
Yamaha, G. 1926. Bot. Mag. 40, p. 172.

Explication des planches.

Tous les dessins ont été exécutés à l'aide d'un appareil à prisme (de Zeiss), d'un objectif apochromatique 1·5 *mm* dont l'aperture est 1·30 (de Zeiss) et d'un oculaire compensateur × 20 (également de Zeiss). La majorité de dessins a été dessinée au niveau de la platine du microscope, à un grossissement de 2500 fois environ; les autres dessins ont été executés à niveau de la table de travail à un grossissement de 4500 fois environ. Dans l'explication des planches j'emplois des abréviations suivantes: *B* — Benda (le Flemming fort, avec la quantité reduite d'acide acétique) *Bsa* — Benda sans acide acétique, *N* — liqueur de Němec.

Planche V.

1—3. H. albiflos, l'anaphase, Bsa, × 2500.
4. Vicia, id., B, × 4500.
5. H. albiflos, id., Bsa, 2500.
6—8. H. Katharinae, id., Bsa, × 4500.
9. id., tassement polaire, Flemming fort, × 2500.
10. id., le commencement de la télophase, Flemming fort, × 2500.
11—12. H. albiflos, la télophase prècoce, Bsa, × 2500.
13. H. Katharinae, id., Bsa, × 4500.
14. id., id., Bouin, × 2500.
15. Vicia, le stade moyen de la télophase, B, × 4500.
16—18. H. Katharinae, id., N, × 4500.
19. Vicia, id., B, × 4500.

Planche VI.

20. H. Katharinae, le stade moyen de la télophase, Flemming fort, × 2500.
21. H. albiflos, la télophase tardive, Bsa, × 2500.
22—23.
24. H. albiflos, le passage à l'interphase, Bsa, × 2500.
25. H. Katharinae, l'interphase, Bsa, × 4500.
26. id., id., N, × 4500.
27—29. id., le commencement de la prophase, N, × 4500.
30—31. H. albiflos, id., Bsa, × 2500.
32. H. Katharinae, id., Flemming fort, × 2500.
33. Vicia, id., B, × 4500.
34. H. Katharinae, id., Bouin, × 2500.
35—36. Vicia, id., B, × 4500.
37. H. Katharinae, le passage à la spirale apparemment simple, N, × 4500.
38. id., id., Flemming fort, × 2500.

Planche VII.

39—40. H. albiflos, la spirale apparemment simple, Bsa, × 2500.
41—42. Vicia, id., B, × 4500.
43. H. Katharinae, id., Flemming fort, × 2500.
44. id., id., Bsa, × 4500.
45. id., id., Flemming fort, × 2500.
46. Vicia, id., B, × 4500.
47—48. H. Katharinae, id., N, × 4500.
49. H. albiflos, id., Bsa, × 2500.

50—52. H. Katharinae, le stade moyen de la prophase, N, × 4500.
53—56. H. albiflos, id., Bsa, × 2500.
57. Vicia, id., B. × 4500.
58. H. Katharinae, id., Bsa, × 4500.
59. id., id., Flemming fort, × 2500.
60. Vicia, id., B, × 4500.

Planche VIII.

61—62. Vicia, le stade moyen de la prophase, B, × 4500.
63. H. albiflos, id., Bsa, × 2500.
64—65. Vicia, id., B, × 4500.
66—67. H. Katharinae, id., N, × 4500.
68—71. id., la prophase tardive, N, × 4500.
72. H. albiflos, id., Bsa, × 2500.
73—74. H. Katharinae, id., Flemming fort, × 2500.
75—77. id., id., N, × 4500.
78—80. H. albiflos, métaphase, Bsa, × 2500.
81. H. Katharinae, id., N., × 4500.

Influence du rouge neutre sur le développement de certains Myxomycètes.

Par
F. X. SKUPIEŃSKI.

Au cours de mes recherches cytologiques sur les Myxomycètes j'ai pu me rendre compte que le rouge neutre, auquel j'ai déjà consacré une publication (1929), peut, dans certaines conditions, devenir nuisible pour ces organismes. Ce colorant vital, dont l'emploi est très pratique et peut bien aider à résoudre certaines questions obscures d'ordre morphogénétique, quand il est soumis à 100° C (température de stérilisation habituelle) il devient toxique et empêche le développement normal des organismes en question.

Didymium nigripes, myxomycète endosporé, *Dictyostelium mucoroides*, *Polysphondylium pallidum* et *Polysphondylium violaceum* [1]), du groupe des Acrasiées, constituèrent l'objet de mes recherches. Ces organismes furent cultivés sur la gélose au bouillon de carotte et de pomme de terre (25 *gr* de carotte et 25 *gr* de pomme de terre épluchée pour un litre d'eau). Le P_h du milieu ainsi préparé et réparti dans des tubes à essai est, après la stérilisation, de 7—7·4. Le cycle évolutif complet, sur un tel substratum, dure pour *Didymium nigripes* de 12 à 14 jours et pour les trois Acrasiées de 4 à 6 jours, à la température de la chambre (14—16° C).

Après l'ensemencement, les cultures de chaque espèce furent divisées en deux groupes. Chaque culture d'un groupe a reçu, à l'aide d'une pipette stérile, un peu de solution de rouge neutre à 1 : 1000. La quantité du colorant introduit est telle que l'eau de condensation, accumulée dans le fond du tube (à la base du bloc de gélose) prit une coloration nettement rose. Un autre groupe de cultures ne reçoit pas de colorant et constitut le groupe-témoin. Les deux catégories

[1]) Les souches de ces deux derniers m'ont été gracieusement offerts par Monsieur le Professeur S. Krzemieniewski de Lwów.

de cultures furent gardées dans un endroit obscur à la température de la chambre (14—16° C).

Didymium nigripes.

Dans les deux groupes de cultures, l'un avec colorant l'autre sans, les spores germent au bout de quelques heures avec la même intensité, à la suite de quoi apparaissent, dans l'eau de condensation, de nombreuses myxamibes et zoospores. A coté de cela les bactéries, associées à l'organisme en question, prennent un développement pareil dans les deux catégories de cultures. A mesure que celui-ci avance, la couleur rose de l'eau de condensation disparaît pour ainsi dire complétement. Ce fait peut être facilement expliqué: sous l'influence des bactéries en évolution le milieu nutritif devient alcalin; cette alcalinité croissante fait virer le rouge neutre en jaune pâle. Quelques jours plus tard, dans toutes les cultures, avec et sans colorant vital, à la surface de la gélose, apparaissent de petits plasmodes dont le nombre est différent pour chaque culture. Dans les cultures additionnées de rouge neutre, ces petits plasmodes prennent la coloration rose pâle. L'analyse microscopique permet de constater que cette couleur rose des plasmodes est due à la coloration de leurs vacuoles (celles-ci ayant la réaction acide) ainsi qu'à la coloration très intense des corpuscules métachromatiques.

Au bout d'un certain temps les petits plasmodes se fusionnent en un seul plasmode qui s'étale sur toute la surface du substratum. La couleur rose d'un pareil plasmode augmente progressivement d'intensité, surtout, quand s'approche la période de fructification. Le plasmode de *Didymium nigripes* peut fructifier sur n'importe quelle partie du substratum: tantôt sur la partie supérieure de celui-ci c-à-d. sur la partie la plus sèche), tantôt au centre, tantôt dans sa partie inférieure, au contact même de l'eau de condensation. C'est le dernier stade de la formation des fructifications qui est les plus instructif; les pieds de celles-ci sont dépourvus de colorant vital, tandis que les sporanges prennent une coloration rouge intense. L'examen microscopique permet de constater que dans ce stade le protoplasme est très condensé (par la perte considérable d'eau) et il contient un grand nombre de corpuscules sphériques, colorés en rouge très foncé. Ces derniers, comme je l'ai déjà annoncé dans ma publication précédente, seraient probablement des corpuscules métachromatiques; transportés dans l'eau distillée, ils gonflent et se transforment en vacuoles, colorées en rose. A coté de ces éléments il y a également un certain pourcentage de noyaux en voie de dégéné-

rescence qui prennent la coloration rouge. C'est donc à ces éléments que le sporange doit sa coloration rouge, au dernier stade de sa formation. Quand les sporanges atteignent le stade de la formation des spores, on peut constater que chacune d'elle renferme une ou deux grandes vacuoles colorées en rose. Ces vacuoles renferment, chacune, un corp cristallin, de nature incertaine, coloré en rouge intense. Grâce à ce fait l'intensité de la coloration du sporange va en augmentant. Il faut ajouter, que souvent, dans ces sporanges en formation, on peut trouver des cristaux de rouge neutre sous forme de paillette, réunies en faisseaux.

Le grand inconvénient que présente cette méthode d'ajouter du colorant vital après la stérilisation et le refroidissement du milieu de culture est que sa solution contient toujours des bactéries ou des spores d'une moisissure quelconque qui, en se développant plus tard, empêchent ou gênent tout au moins le développement normal du myxomycète. Pour éviter cette cause d'erreur il a fallu apliquer une autre méthode d'opération; celle d'ajouter du rouge neutre au milieu de culture [1]) avant sa stérilisation m'a parue la plus sûre. Après la triple stérilisation à la température de 100° C, la gélose ainsi preparée est uniformement colorée en rouge par le colorant en question. Le P_h d'un tel milieu ne fut pas changé par la stérilisation. Les spores semées dans le milieu ainsi préparé germent comme dans un milieu dépourvu de colorant vital ou dans un milieu additionné de ce colorant non stérilisé. Si jusqu'à présent tout se passe normalement, comme dans les cultures dépourvues de colorant vital, les stades suivant du développement présentent des anomalies frappantes.

Sur environ cent cultures que j'ai monté, quinze seulement m'ont donné des plasmodes; sur ces quinze plasmodes trois seulement ont abouti à la fructification, les autres ayant complétement disparu de la surface du substratum, après quelques jours d'existence. Ces plasmodes de taille et de forme très différents de ceux que l'on obtient dans le milieu normal (sans colorant vital), sont intensément colorés en rouge, beaucoup plus intensément que les plasmodes formés dans le milieu nutritif identique, additionné de solution du rouge neutre non stérilisée. De ces trois cultures qui ont donné les fructifications, dans deux, celles-ci n'ont pas abouti au terme final de leur formation; elles ont été toutes arrêtées pour ainsi

[1]) Je fais une solution de rouge neutre à la concentration 1 : 15.000, dans l'eau du robinet. A cette solution j'ajoute de la gélose (20 *gr* pour 1 litre) que je fais bouillir à 100° C. Le milieu ainsi préparé est réparti dans des tubes à essai et stérilisé ensuite trois fois à la température de 100° C.

dire subitement dans leur procès de mûrissement. Ces fructifications ne diffèrent pas extérieurement des fructifications normales en voie de formation. Chacune d'elle est constituée d'un sporange coloré en rouge et d'un stipe coloré en rose. Analysés au microscope, ces sporanges, datant de plusieurs jours, sont constitués, chacun, d'une masse d'aglomérations granuleuses de forme et de taille différentes. Il n'y a pas de columelle, d'aucune trace de spores ni de capillitium. Les cristaux de carbonate de caltium ne s'y forment pas non plus. Mais en échange, la paroi externe de tels sporanges est très forte et c'est elle qui occupe la presque totalité de la masse du sporange. La coloration rouge intense du sporange est due à la coloration de sa paroi, des granules plasmodiques et à la formation, en grand nombre, de dépôts cristallins du rouge neutre. Certains de ces sporanges présentent cette particularité que parmi ses éléments morts subsistent un ou plusieurs petits plasmodes vivants qui, transportés sur un nouveau milieu, additionné de rouge neutre stérilisé, continuent leur vie normale et finissent par fructifier.

Dans une des trois cultures, dont je viens de parler plus haut, il y a eu deux sortes de fructifications: sur un nombre total de 24, 16 furent anormales et 8 complètement normales. Ce qui est surprenant c'est que ces fructifications se sont formées en une seule rangée, une fructification anormale étant suivie d'une fructification normale et ainsi de suite. Un fait curieux: les spores de ces fructifications normales, ensemencées dans un milieu pareil au précédent (additionné de rouge neutre sterilisé) germent bien et il s'y forment des plasmodes qui aboutissent régulièrement à des fructifications normales. Celles-ci transplantées de nouveau sur un substratum pareil, fournissent également des fructifications normales.

Toutes ces observations prouvent que le rouge neutre soumis à des hautes températures (stérilisation à 100^0 C) même quand il est à une concentration relativement faible, devient toxique pour *Didymium nigripes.* Mais de l'autre coté cet organisme est capable de s'adapter très vite à ce changement de milieu, causé par la décomposition du rouge neutre.

Acrasiées.

Ces organismes, pareillement à *Didymium nigripes*, se développent très bien en présence du rouge neutre, contenu en assez forte concentration (1 : 5000) dans le milieu nutritif, à l'exception de *Dictyostelium mucoroides* qui supporte mal en général la présence de ce colorant vital. Pour étudier l'influence de ce dernier sur le développement des organismes en question, j'ai préparé les mêmes milieux

de cultures que pour *Didymum nigripes*, c.-à-d. *a)* milieu sans le colorant vital, *b)* avec le colorant vital à la concentration 1 : 15.000 et stérilisé en même temps que le milieu nutritif, *c)* avec le colorant vital, ajouté après la stérilisation et le refroidissement du milieu nutritif, à la concentration à peu près 1 : 5.000. Les cultures de ces trois espèces furent gardées toujours dans l'obscurité et à la température de la chambre (14—16° C).

Dictyostelium mucoroides. Sur le substratum, dépourvu complétement de rouge neutre cet organisme se développe toujours le mieux de toutes les Acrasiées, en fournissant d'abondantes récoltes. Dans le milieu, additionné de rouge neutre à la concentration 1 : 5.000 et non stérilisé, il n'y a eu aucune trace de fructifications. Les bactéries, au contraire, se sont très bien développées. Dans le milieu, additionné de rouge neutre à la concentration 1 : 15.000 et sterilisé il n'y a eu non plus aucune trace de fructifications. Mais le milieu additionné de rouge neutre à la même concentration et non stérilisé, est favorable au développement de l'organisme en question. A un moment donné la surface du substratum ainsi préparé se couvre de nombreuses globules brillants et colorés en rose; ce sont des pseudoplasmodes, provenant de l'accumulation de myxamibes et leur couleur rose est due à la coloration des vacuoles et des corpuscules métachromatiques de ces myxamibes. A mesure qu'un pseudoplasmode se transforme en une fructification, l'intensité de la coloration augmente et finalement le rouge neutre se concentre uniquement dans le sporange et fait complétement absence dans le stipe.

Polysphondylium pallidum. J'ai fait, comme pour *Dictyostelium mucoroides* trois groupes de cultures. Dans le groupe, contenant du rouge neutre à la concentration 1 : 15.000 et stérilisé, sur trente cultures, une seulement contenait une seule fructification médiocre, dont les sporanges furent colorés en rose; dans les autres cultures se sont formés seulement les pseudoplasmodes, colorés en rose et de formes sphériques ou coniques. Dans l'autre groupe, contenant du rouge neutre à la concentration 1 : 5.000 et non stérilisé, se sont formées d'abondantes fructifications. On peut suivre progressivement le développement de chaque fructification, depuis la formation du pseudoplasmode jusqu'à l'apparition des sporanges. La présence du rouge neutre dans le milieu nutritif facilite beaucoup cette observation. On voit tout d'abord, sur le fond incolore du substratum, des pseudoplasmodes ramifiés et colorés en rose. L'analyse microscopique permet de constater que cette coloration provient de la coloration des vacuoles et des granulations métachromatiques des

myxamibes qui prennent part à la formation de ces pseudoplasmodes. Cette coloration augmente d'intensité quand le pseudoplasmode prend une forme sphérique. La sphére pseudoplasmodique s'allonge verticalement en une forme conique. C'est alors que la coloration rose passe progressivement à la partie terminale du cône. A mesure que celui-ci évolue en fructification composée, le stipe et ses ramifications perdent progressivement leur couleur rose et celle-ci se concentre uniquement dans les sporanges. Elle y persiste pendant longtemps, jusqu'à leurs complète dessication. L'analyse microscopique des fructifications permet de constater que leurs sporanges sont costitués par un liquide mucilagineux dans lequel baignent de nombreuses spores de forme ovale. Mais, à coté de celles-ci, il y a d'autres cellules, dépourvues de membrane solide, toutes de forme sphérique, un peu plus grandes que les spores et très vacuolisées. Je laisse de côté pour le moment la provenance et le rôle de ces cellules; cette question sera discutée par moi dans une prochaine publication. C'est grâce à ces cellules, riches en nombreuses vacuoles, que la couleur rose des pseudoplasmodes augmente d'intensité dans les sporanges et passe au rouge. Les spores, bien que possèdant une fine membrane incolore — ce qui facilite l'observation de leur contenu, — sont complétement dépourvues de colotant vital. Il est donc évident que le rouge neutre à la concentration 1 : 5.000 n'est pas toxique pour l'organisme en question et il devient toxique, même à une concentration plus faible (1 : 15.000) quand ce colorant, mélangé au substratum gélosé, subit une triple stérilisation à 100° C, comme cela a été demontré par les cultures de *Didymtum nigripes*.

Le résultat est tout autre si on ensemence, sur un tel milieu, les spores provenant des sporanges évolués en présence du rouge neutre même non sterilisé. On est alors frappé par un curieux phénomène: dans toutes les cultures le développement de *Polysphondylium pallidum* se passe régulièrement et aboutit à une masse très abondante de fructifications. Celles-ci forment dans certaines cultures des touffes très serrées, composées d'individus vigoureux et dont les sporanges sont colorés en rouge. Il est évident que l'organisme en question s'adapte très vite à cette nouvelle combinaison de substratum et en plus de cela le rouge neutre modifié parait jouer, par rapport au myxomycète, le rôle d'un stimulant.

Polysphondylium violaceum. Cet organisme, pareillement aux précédents, se laisse facilement cultiver sur les différents substratums synthétiques. Pour étudier l'influence du rouge neutre sur le développement de cet organisme, j'ai monté également trois groupes de

cultures: *a)* sans colorant vital, *b)* contenant du rouge neutre à 1 : 5.000 et *c)* contenant du rouge neutre à 1 : 15.000, stérilisé en même temps que le substratum.

Les cultures, contenant chacune du rouge neutre à la concentration 1 : 5.000 et non stérilisé, présentent un développement normal de *P. violaceum*. Au bout de trois jours, à partir de l'ensemencement des spores, apparaissent, à la surface du substratum incolore, des pseudoplasmodes colorés en rose. A mesure que le développement suit sa course normale et les pseudoplasmodes, d'abord ramifiés, ensuite sphériques, se transforment en fructifications composées, la couleur rose s'intensifie et passe progressivement vers la partie supérieure de celles-ci. Finalement, quand les fructifications sont complétement formées, leurs stipes sont incolorés, tandis que les sporanges, colorés normalement en viotet clair, prennent, en présence du rouge neutre, une coloration violette foncée. Cette coloration persiste indéfiniment, même après la dessication complète des sporanges; ceux-ci paraissent alors sous forme de masses presque noires et mates.

J'ai pu également constater que cette espèce peut se développer en présence d'une plus forte concentration de rouge neutre, allant jusqu'à 1 : 2.000. Bien qu'en présence d'une telle concentration les fructifications arrivent à se former complètement, elles sont néanmoins peu nombreuses et d'une taille médiocre.

Sur le substratum, mélangé d'avance avec le rouge neutre à la concentration 1 : 15.000 et stérilisé, *Polysphondylium violaceum*, contrairement aux autres myxomycètes cités plus haut, est capable de passer par le cycle évolutif complet. Mais dans ces nouvelles conditions toutes les fructifications changent de formes et de taille; leurs stipes sont plus courts et plus épais que ceux des fructifications normales et sont dépourvus de ramifications caractéristiques pour cette espèce. Leurs sporanges sont néanmoins de volume et de forme ordinaire et fortement colorés en violet très foncé.

Quand on transplante. sur un tel substratum, les spores provenant des sporanges, évolués en présence du rouge neutre stérilisé ou non, on obtient alors un développement normal de cet organisme, comme si dans ce substratum il n'y avait pas du tout de colorant vital. L'abondance de fructifications m'a parue même plus forte que dans les cultures dépourvue de colorant vital.

En résumé, les myxomycètes dont il s'agit dans cette note, ne se comportent pas tous de la même manière en présence du rouge neutre, contenu dans le milieu de cultures. A l'exception de *Dictyostelium mucoroides*, tous ces organismes supportent bien de fortes

concentrations de ce colorant vital (1 : 5.000) et *Polysphondylium violaceum* peut fructifier même en présence d'une concentration à 1 : 2.000.

Mais en présence de la solution de rouge neutre qui a subi préalablement une triple stérilisation à 100° C, les mêmes organismes se comportent d'une façon différente, malgré que la concentration du colorant vital soit diminuée jusqu'à 1 : 15.000. Dans ces conditions *Didymium nigripes* se développe très difficilement et dans les cultures, oú apparaissent les fructifications, une partie de celles-ci subit des modifications tératologiques. *Dictyostelium mucoroides*, dans les mêmes conditions, ne donne aucun signe de vie; les bactéries qui l'accompagnent ne se développent même pas et la surface du substratum rèste toujours intacte. *Polysphondylium pallidum* prend un développement médiocre, tandis que *Polysphondylium violaceum* se développe le mieux, en fournissant, dans toutes les cultures, d'assez abondantes fructifications. Celles-ci subissent néanmoins de fortes modifications morphologiques.

L'influence toxique du rouge neutre, ayant subi une triple stérilisation, ne fait aucun doute. Mais de l'autre côté tous ces organismes s'adaptent très vite à ce milieu toxique.

Le rouge neutre, bien qu'il soit considéré comme un colorant par excellence vital, peut, dans certaines conditions ou en certaines concentrations, troubler l'évolution normale des organismes étudiés. De nombreuses preuves ont été fournies à ce sujet auparavant par plusieurs auteurs et dernièrement par W. A. Becker dans son excellent travail sur l'influence des colorants vitaux sur le caractère de la cinèse somatique.

Institut de Botanique Générale de l'Université de Varsovie.

Index bibliographique.

1. Becker, W. A. Wpływ barwików, stosowanych za życia na charakter kinezy somatycznej. (Influence des colorants vitaux sur le caractère de la cinèse somatique). — Acta Soc. Bot. Pol. Vol. VI, Nr. 3. 1929.

2. Harper, R. A. Morphogenesis in *Polysphondylium*. — Bull. of the Torrey Botanical Club, Vol. 56. 1929/30.

3. Skupieński, F. X. Sur la coloration vitale de *Didymium nigripes* (Fr.). Note préliminaire. — Acta Soc. Bot. Pol. Vol. VI, Nr. 3. 1929.

Budowa aparatu szparkowego u *Polytrichaceae*.
(Structure de l'appareil stomatique chez les *Polytrichaceae*).

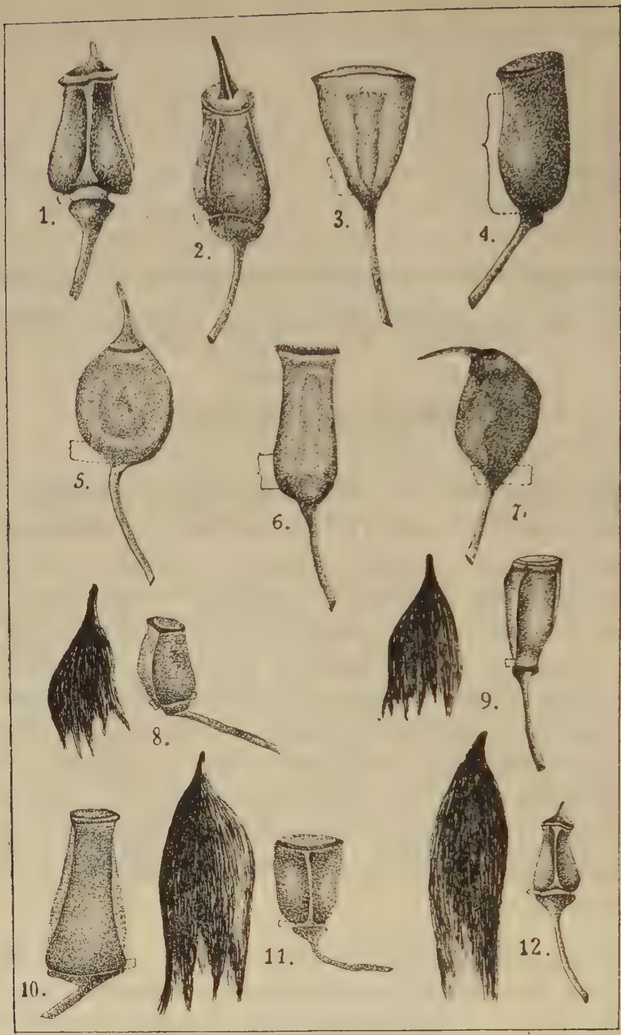
Napisała

STANISŁAWA SZYMAŃSKA.

Aparaty szparkowe u mchów liściastych pierwszy obserwował Treviranus w 1811 roku (14) na szyjkach u *Leptobryum Pyriforme*. Wyraził on wówczas przypuszczenie, że podobne aparaty szparkowe znajdują się prawdopodobnie i u innych mchów liściastych; zostało to wkrótce potwierdzone przez Roberta Brown'a (1), który w 1818 r. znalazł podobne aparaty szparkowe na puszce u *Lyellia Crispa* i u *Buxbaumia*. Aparatami szparkowemi mchów liściastych zajmowali się następnie Schimper w 1848 r. (13), Haberlandt w 1886 r. (5, 6), Bünger w 1890 r. (2), Porsch w 1905 r. (11), Goebel w 1915 r. (4), Kuhlbrodt w 1923 r. (8), Brotherus w 1924 r. (3) i Lorch w 1931 r. (10). U tego ostatniego znajdujemy dokładny spis literatury, jak również obszerną historję samego przedmiotu [1]).

Materjał gotowałam w wodzie od 3—7 minut, a następnie przechowywałam w 75% alkoholu. U niektórych gatunków aparaty szparkowe dawały się już zaobserwować przy użyciu 80-krotnego powiększenia mikroskopu (okul. 2 razy obj. Nr. 4). W tym wypadku obserwacje prowadziłam wprost na zdartej skórce. Częściej jednak aparaty szparkowe na puszce nie były tak łatwo dostrzegalne, a wówczas uciekałam się do rozgniatania preparatu. Przekroje poprzeczne robiłam zapomocą brzytwy przy użyciu rdzenia bzowego. Charakter błon komórek, wchodzących w skład aparatu szparkowego, który częściowo barwiłam zapomocą wezuwiny, określałam na zasadzie reakcyj: Jod + H_2SO_4 i Chlorek cynku + Jod, Floroglucyna + HCl. Zawartość komórek zamykających badałam reakcjami na skrobię, tłuszcze i białka w/g Molischa. Ilość aparatów szparkowych oraz powierzchnię, na której one występują, obliczałam przy użyciu okularu Nr. 2, a objektywu Nr. 4 (powiększenie mikroskopu ca 80). Wielkość zaś komórek zamykających aparatu szparkowego oraz wielkość szpary wymierzałam pod okularem Nr. 2 objektywem Nr. 7 (powiększenie ca 300).

[1]) Praca powyższa wyszła w tym czasie, kiedy kończyłam pisać rzecz niniejszą.



Objaśnienie do Ryc. 35.

1.	Puszka	*Polytrichum commune*	× 7
2.	„	*Polytrichadelphus rubiginosus*	× 10
3.	„	*Batramiopsis Leseurii*	× 10
4.	„	*Dendroligotrichum dendroides*	× 10
5.	„	*Psilopilum australe*	× 10
6.	„	*Oligotrichum incurvum*	× 10
7.	„	*Psilopilum trichodon*	× 10
8.	Puszka z czepcem	*Polytrichum gracile*	× 6
9.	„	*Polytrichum ohiense*	× 6
10.	„	*Oligotrichum hercynicum*	× 10
11.	„	*Polytrichum strictum*	× 6
12.	„	*Polytrichum piliferum*	× 10

Do badania budowy anatomicznej aparatu szparkowego u *Polytrichaceae* używałam materjału zielnikowego. Pospolitsze gatunki z rodzaju *Polytrichum*, *Oligotrichum*, *Catharinaea* i *Pogonatum* otrzymałam z zielnika Zakładu Systematyki Roślin Uniwersytetu Warszawskiego. Gatunki północne z rodzaju *Polytrichum*, *Batramiopsis*, *Oligotrichum* sprowadzone zostały z Leningradu, gatunki zaś południowe z rodzaju *Psylopilum*, *Rhacelopus*, *Pogonatum*, *Polytrichadelphus* z New-Yorku. Pozostałe gatunki rodzaju *Lyellia*, *Psilopilum*, *Pogonatum* otrzymałam z Ogrodu Botanicznego w Kew.

Polytrichum commune posiada aparaty szparkowe na szyjce i między szyjką a nasadą puszki (Ryc. 35, fig. 1, miejsce występowania aparatów szparkowych zaznaczono klamrą). Aparat taki u *Polytrichum commune* składa się z 2 komórek zamykających, pomiędzy któremi znajduje się szpara. Komórki zamykające mają kształt nasion fasoli. Są duże, długość ich wynosi 56 μ, a szerokość 24·8 μ. Błony od strony szpary są grube, błonnikowe, okryte od zewnątrz cienką warstwą kutikuli (Ryc. 37, fig. 2, kutikula zaznaczona na rysunkach czarną linją). Przeciętnie grubość błony wynosi 3 μ. Szpara jest na przekroju poprzecznym soczewkowata i znajduje się w małem, lejkowatem wgłębieniu *(l)*. Długość szpary wynosi przeciętnie 40·8 μ, a szerokość 4 μ. Komora przedechowa ma kształt nieregularny. Komórki zamykające zawierają chlorofil i skrobię. Na mm^2 przypada 58 aparatów szparkowych. Powierzchnia zaś, na której występują te aparaty, wynosi 1243440 μ^2. Czepiec (Kalyptra), pokrywający puszkę z zewnątrz, jest postrzępiony i odstający od jej powierzchni, nie osłania więc aparatów szparkowych.

U *Polytrichum formosum* aparaty szparkowe występują między puszką a szyjką. Budowa anatomiczna tych aparatów jest bardzo zbliżona do aparatów szparkowych u *Polytrichum commune*. Komórki zamykające są tu większe niż u *P. commune*. Długość komórek zamykających wynosi 72·2 μ, a szerokość 25·6 μ. Szpara pośrodku przewężona (Ryc. 36, fig. 3) jest na przekroju poprzecznym beczułkowata (Ryc. 37, fig. 6). Przeciętna liczba aparatów szparkowych na puszce wynosi 112; na mm^2 przypada ich 95. Powierzchnia, na której występują aparaty szparkowe, wynosi 1186920 μ^2. Czepiec, pokrywający puszkę z zewnątrz, jest krótki, ma kształt parasolowaty, odstaje od powierzchni puszki.

U *Polytrichum hyperboreum* aparaty szparkowe występują na szyjce. Są one dwukomórkowe. Długość komórek zamykających = 75·2 μ, przy szerokości = 24 μ; zawierają one chloroplasty i skrobię. Błony komórek zamykających są błonnikowe, od strony szpary grube, z cha-

rakterystycznemi zgrubieniami przy końcach szpary (Ryc. 36, fig. 4-*z*). Katikula pokrywa je tak, jak się to dzieje u wyżej opisanych gatunków. Szpara jest prosta, co widać na przekroju poprzecznym (Ryc. 37, fig. 8). Długość szpary wynosi 38·4 μ, a szerokość 2·4 μ. Komora przedechowa *(c)* jest dłuższa niż u *P. commune.* Liczba aparatów szparkowych: 86 na mm^2, a powierzchnia przez nie zajmowana wynosi 474768 μ^2. Stosunek czepca do puszki taki, jak u *P. formosum.*

Polytrichum juniperinum ma aparaty szparkowe o budowie anatomicznej zupełnie podobnej do aparatów szparkowych u *P. commune*, tylko szpara, jak to widać na przekroju poprzecznym (Ryc. 37, fig. 7), jest tu prosta, a nie soczewkowata. Komora przedechowa *(c)* jest stosunkowo mała o kształcie nieregularnym.

U *Polytrichum gracile* aparaty szparkowe występują na dolnej części puszki i między puszką a szyjką (bardzo wąską). Aparat szparkowy składa się z 2 dużych komórek zamykających. Długość komórek zamykających wynosi 76 μ, a szerokość 21·6 μ. Błony komórek zamykających są grube (Ryc. 36, fig. 2), błonnikowe. Przeciętna grubość błony od strony szpary wynosi 4·8 μ. Lejek [1]) na przekroju poprzecznym bardzo płytki. Szpara jest soczewkowata; ma długości 33·5 μ, a szerokości 5·6 μ. W komórkach zamykających znajduje się dużo skrobi. Przeciętna liczba aparatów szparkowych równa się 94; na mm^2 przypada ich 88, powierzchnia zaś, na której występują, wynosi 1073880 μ^2. Czepiec jest postrzępiony, odstający od powierzchni puszki, nie sięga nawet sfery, w której występują aparaty szparkowe (Ryc. 35, fig. 8).

Polytrichum ohiense posiada aparaty szparkowe na dolnej części puszki. Są one również dwukomórkowe (Ryc. 36, fig. 1). Komórki zamykające są bardzo duże; długość ich wynosi przeciętnie 76 μ, a szerokość 31·2 μ. Błony komórek zamykających od strony szpary są nadzwyczaj grube (przeciętnie grubość ich wynosi 5·6 μ). Szpara ma kształt owalny; na przekroju poprzecznym jest prosta. Lejek bardzo płytki. Długość szpary wynosi 37·6 μ, a szerokość 6·4 μ. Komora przedechowa mała, prawie prostokątna. Komórki zamykające zawierają skrobię. Na mm^2 występuje około 57 aparatów szparkowych; powierzchnia przez nie zajęta wynosi 723456 μ^2. Puszkę okrywa czepiec krótki parasolowaty (Ryc. 35, fig. 9).

U *Polytrichum strictum* aparaty szparkowe występują na szyjce, otoczonej płytką rynienką; są one dwukomórkowe. Komórki zamy-

---

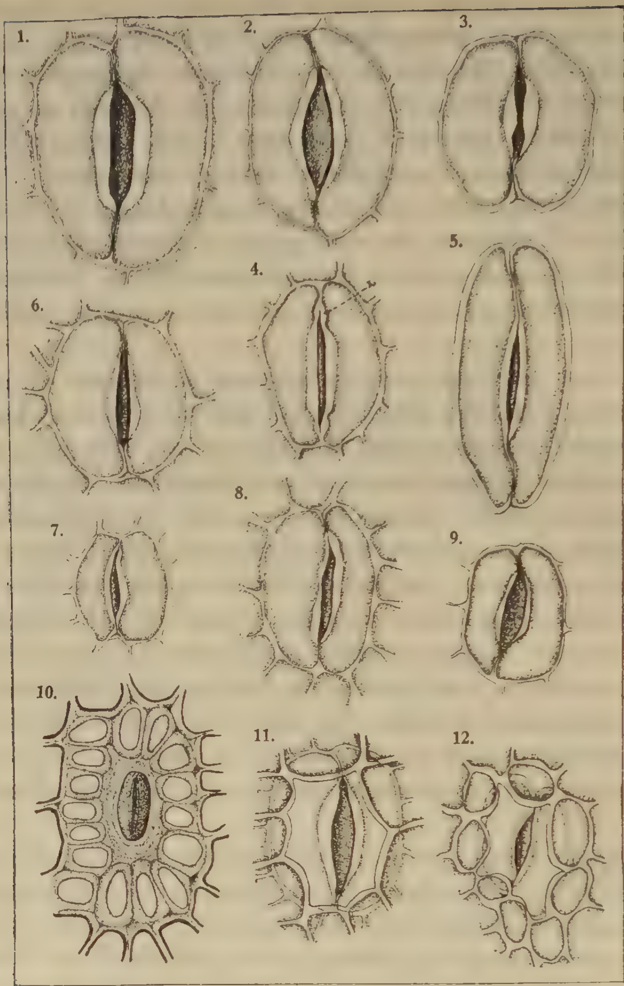
[1]) Lejkowate zagłębienie, w którem znajduje się szpara (Porsch 11); na przekrojach poprzecznych (Ryc. 36) zaznaczone są literą *l.*

kające bywają najczęściej nierówne (Ryc. 36, fig. 8). Długość ich wynosi przeciętnie 64 μ, a szerokość (szerszej k. z.) 19·2 μ. Na przekroju poprzecznym (Ryc. 37, fig. 4) uwydatniają się grube, błonnikowe błony komórek zamykających. Zwłaszcza zgrubiałemi są błony strony brzusznej. Kutikula jak u *P. commune*. Lejek *(l)* jest głębszy, niż u poprzednio opisanych gatunków. Szpara jest prosta. Komórki zamykające zawierają skrobię. Komora przedechowa *(c)* jest znacznie większa niż u *P. ohiense*. Na mm^2 przypada przeciętnie 58 aparatów szparkowych. Puszka pokryta jest czepcem, który w miejscu występowania aparatów szparkowych powycinany jest w zęby (Ryc. 35, fig. 11).

Polytrichum piliferum posiada aparaty szparkowe na szyjce, otoczonej głęboką rynienką (Ryc. 35, fig. 12). Aparat szparkowy składa się z 2 komórek zamykających. Kształt ich jest taki sam, jak u roślin wyżej opisanych. Długość komórek zamykających wynosi przeciętnie 66 μ, a szerokość 28 μ; błony ich są grube, błonnikowe o zgrubieniach najsilniej wykształconych na stronie brzusznej. Szpara jest prosta; długość jej wynosi przeciętnie 48·8 μ, a szerokość 8 μ. Komórki zamykające zawierają skrobię i chloroplasty. Komora przedechowa jest duża, prawie kulista. Liczba aparatów szparkowych oraz powierzchnia, na której one występują, jest znacznie mniejsza, niż u dotychczas opisanych gatunków. Na mm^2 przypada 45 aparatów szparkowych, a powierzchnia wynosi 576504 μ^2. Puszka i część sety z zewnątrz pokryta jest czepcem, przylegającym do powierzchni (Ryc. 35, fig. 12).

Aparaty szparkowe *Batramiopsis Leseurii* są również dwukomórkowe (Ryc. 36, fig. 5). Komórki zamykające tych aparatów są wydłużone, wąskie. Długość ich wynosi 128 μ, szerokość 24 μ. Błony komórek zamykających są błonnikowe; grubość ich wynosi przeciętnie 2·4 μ. W komórkach zamykających znajduje się skrobia i chloroplasty. Aparaty szparkowe występują w dolnej części puszki. Dokładnie jednak miejsca występowania aparatów szparkowych oraz ich liczby określić nie mogłam, ponieważ musiałam zupełnie rozgniatać puszkę, żeby je zobaczyć.

U *Polytrichadelphus rubiginosus* aparaty szparkowe znajdują się na wąskiej u tego gatunku szyjce i u nasady puszki (Ryc. 35, fig. 2). Aparaty są dwukomórkowe, znacznie mniejsze (Ryc. 35, fig. 9), niż dotychczas opisane. Długość komórek zamykających, obfitujących w skrobię, wynosi przeciętnie 57 μ, a szerokość 17·6 μ. Błony komórek zamykających są błonnikowe, grube, zwłaszcza na stronie brzusznej, gdzie przeciętna grubość błon dochodzi do 4·8 μ. Aparaty



Objaśnienie do Ryc. 36.

1.	Aparaty	szparkowe	widziane	z góry:	u	*Polytrichum ohiense*
2.	„	„	„	„	„	*Polytrichum gracile*
3.	„	„	„	„	„	„ *formosum*
4.	„	„	„	„	„	„ *hyperboreum*
5.	„	„	„	„	„	*Batramiopsis Leseurii*
6.	„	„	„	„	„	*Ollgotrichum hercynicum* odm. nizinna
7.	„	„	„	„	„	*Oligotrichum hercynicum* odm. górska
8.	„	„	„	„	„	*Polytrichum strictum*
9.	„	„	„	„	„	*Polytrichadelphus rubiginosus*
10.	„	„	„	„	„	*Dendroligotrichum dendroides*
11.	„	„	„	„	„	*Psilopilum trichodon*
11.	„	„	„	„	„	„ *australe*

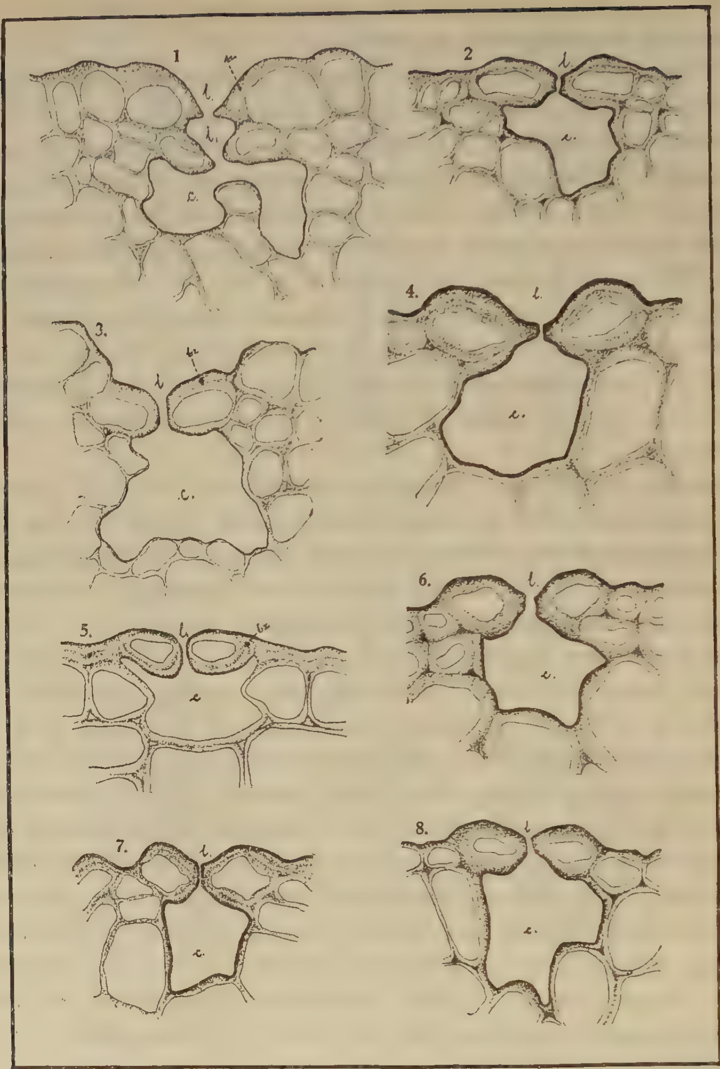
Rysunki robione przy użyciu okularu Nr. 2, a objektywu Nr. 7 (× 300).

szparkowe rozmieszczone są na powierzchni 906400 μ^2 w liczbie 40 aparatów szparkowych na mm^2.

U *Oligotrichum hercynicum* aparaty będące w mowie występują na bardzo wąskiej szyjce i na dolnej części puszki (Ryc. 35, fig. 10). Powierzchnia ta zajmuje 518400 μ^2, a na mm^2 przypada 25 aparatów szparkowych. Długość komórek zamykających u odmian rosnących na nizinach (Ryc. 36, fig. 6) wynosi przeciętnie 64 μ, szerokość zaś 19·2 μ, u odmiany górskiej natomiast długość komórek zamykających wynosi 48 μ, a szerokość 16·2 μ (Ryc. 36, fig. 7). Błonnikowe błony komórek zamykających w okolicy brzusznej posiadają grubość = 3·2 μ. Kutikula ma charakter taki, jak u *P. commune*. Szpara jest prosta, długość jej przeciętna wynosi 24 μ, a szerokość 2·4 μ. Komora przedechowa *(c)* bardzo mała. Puszkę z zewnątrz pokrywa całkowicie długi czepiec.

Aparaty szparkowe *Psilopilum australe* są również dwukomórkowe; występują one na dolnej części puszki (Ryc. 35, fig. 5). Komórki zamykające są półksiężycowate, długość ich wynosi przeciętnie 72 μ, a szerokość 17·6 μ. Błony komórek zamykających są błonnikowe, grubość błon w części brzusznej przeciętnie wynosi 2·4 μ. Cały aparat szparkowy jest zagłębiony tak, że komórki skórki nakrywają zewnętrzne brzegi komórek zamykających; wolną jest tylko szpara (Ryc. 36, fig. 12). Na przekroju poprzecznym widoczny jest szeroki i głęboki lejek *(l)* (Ryc. 37, fig. 3). Komórki zamykające mają błony zewnętrzne *(bz)* grubsze, niż u niżej opisanego *Psilopilum trichodon* Ryc. 37, fig. 1). Szpara jest prosta. Komora przedechowa *(c)* duża o kształcie nieregularnym. Komórki zamykające zawierają chloroplasty i skrobię. Znaczne zagłębienie aparatu szparkowego oraz grubobłonne komórki skórki, przykrywające ten aparat, spełniają tu rolę ochronną, której nie może pełnić zbyt krótki czepiec (pokrywa on zaledwie szczyt puszki). Liczba aparatów szparkowych u *Psilopilum australe* wynosi przeciętnie 48 na mm^2, a powierzchnia, na której one występują 745930 μ^2.

U *Psilopilum trichodon* aparaty szparkowe znajdują się na dolnej części puszki (Ryc. 35, fig. 7). Budowa anatomiczna tych aparatów jest bardzo zbliżona do budowy aparatów szparkowych u *P. australe* (Ryc. 36, fig. 11). Komórki zamykające są duże; długość ich wynosi 73·6 μ, a szerokość 24 μ. Błony strony brzusznej tych komórek są grube; przeciętnie grubość ich wynosi 4·8 μ. Szpara jest dość duża: długość jej wynosi 56 μ, a szerokość 8 μ. Na przekroju poprzecznym przez aparat szparkowy (Ryc. 37, fig. 1) widoczny jest dwupiętrowy *(l, l_1)* lejek znacznie głębszy, niż u innych, dotychczas opisanych, apa-



Objaśnienie do Ryc. 37.

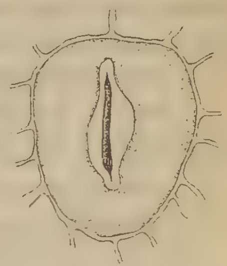
1. Przekroje poprzeczne przez aparaty szparkowe: u *Psilopilum trichodon*
2. „ „ „ „ „ „ *Polytrichum commune*
3. „ „ „ „ „ „ *Psilopilum australe*
4. „ „ „ „ „ „ *Polytrichum strictum*
5. „ „ „ „ „ „ *Dendroligotrichum dendroides*
6. „ „ „ „ „ „ *Polytrichum formosum*
7. „ „ „ „ „ „ *Polytrichum juniperinum*
8. „ „ „ „ „ „ „ *hyperboreum*

bz — błony zewnętrzne, *l* — lejkowate zagłębienie, *c* — komora przedechowa.
Rysunki robione przy użyciu okularu Nr. 2, a objektywu Nr. 7 (× 300).

ratów szparkowych. Komora przedechowa *(c)* jest dwuzatokowa na skutek wzniesień miękiszu dna. Warstewka kutikuli na zewnętrznych błonach *(bz)* komórek skórki i komórek zamykających jest tu znacznie cieńsza, niż w poprzednio opisanych wypadkach. Liczba aparatów szparkowych na mm^2 wynosi 43, a powierzchnia, na której one występują, wynosi przeciętnie 847800 μ^2. Czepiec pokrywa zaledwie szczyt puszki.

Dendroligotrichum dendroides posiada aparaty szparkowe rozmieszczone prawie na całej powierzchni puszki (Ryc. 35, fig. 4). Są one dwukomórkowe. Komórki zamykające są małe: długość ich wynosi 48 μ, a szerokość 19·2 μ. Mają one bardzo grube błony. Aparat szparkowy widziany z góry wygląda na zagłębiony (Ryc. 36, fig. 10), czemu przeczy jego przekrój poprzeczny (Ryc. 37, fig. 5). Komórki zamykające spoczywają wyżej niż pozostałe komórki skórki, o bardzo grubych błonach zewnętrznych *(bz)*. Szpara jest bardzo wąska: szerokość jej wynosi 1·6 μ. Komora przedechowa *(c)* jest mała o kształcie nieregularnym. Na mm^2 przypada tu $\pm$ 34 aparaty szparkowe; powierzchnia zaś, na której występują, wynosi 3672000 μ^2. Rodzaje *Catharinaea*, *Rhacelopus* i *Pogonatum*, należące do rodziny *Polytrichaceae*, aparatów szparkowych nie posiadają.

Zwężenie szpary w aparatach szparkowych u *Polytrichaceae* polega na tem, że komórki zamykające rozszerzają się, wskutek czego obustronne ścianki brzuszne uwypuklają się (Haberlandt). Co do przeznaczenia aparatów szparkowych u mchów liściastych, to zdania były podzielone. Treviranus (14), identyfikując czynność aparatów szparkowych u mchów liściastych z aparatami szparkowemi roślin nasiennych, przypuszcza wszakże, że grają one pewną rolę przy wysypywaniu zarodników. Robert Brown (1) twierdził nawet, iż zadanie to być może „ich jedynem i całkowitem przeznaczeniem". Tym opinjom sprzeciwiają się Haberlandt i Lorch. Ten ostatni wypowiada się stanowczo za tem, że aparaty szparkowe mchów liściastych tworzą część składową systemu asymilacyjnego i fizjologicznie nie można ich oddzielić od reszty elementów tego rodzaju, jak parenchyma gąbczasta, miękisz palisadowy i t. p. Co się tyczy aparatów szparkowych w rodzinie *Polytrichaceae*, to znaczna liczba chloroplastów w komórkach zamykających oraz masa asymilatorów w postaci skrobi przemawiają za tem, że aparaty szparkowe są i tu częścią składową systemu asymilacyjnego sporofitu.



Ryc. 38. Jednokomórkowy aparat szparkowy u *Polytrichum hyperboreum* ($\times$ 300).

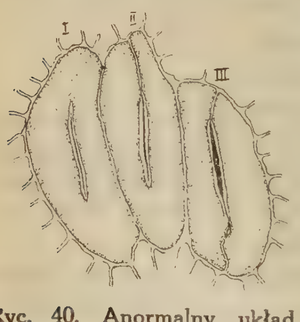
Prócz normalnych dwukomórkowych aparatów szparkowych spotykałam u *Polytrichaceae* aparaty szparkowe jednokomórkowe. Występowały one na puszkach, z których wysypywały się już dojrzałe zarodniki, u *Polytrichum formosum*, *P. strictum*, *P. juniperinum*, *P. gracile*, *P. hyperboreum*, *Oligotrichum canaliculatum*, *Ol. incurvum*. Często na tej samej puszce obserwowałam obok dwukomórkowych aparatów aparaty jednokomórkowe, znane u mchów z prac Büngera (2), Porscha (4), Haberlandta (6), Goebla (9) i innych. Aparat taki składa się z jednej komórki (Ryc. 38), pośrodku której znajduje się w błonie szpara, prawie zawsze wąska lub zamknięta. Części błony komórki, przylegające do szpary, są grube, błonnikowe. Aparaty szparkowe czterokomórkowe spotykałam w rodzajach *Oligotrichum* i *Dendroligotrichum*. Te aparaty posiadały tylko ślady szpar.



Ryc. 39. Aparat szparkowy bliźniaczy u *Polytrichum hyperboreum* (× 300).

U wielu gatunków w rodzajach *Polytrichum* i *Lyellia* obserwowałam ponadto aparaty szparkowe bliźniacze (Ryc. 39). Aparat taki składa się z dwu aparatów szparkowych. Lewy ma szparę zamkniętą, prawy otwartą. Komory przedechowe (kp) są wydłużone o kształtach nieregularnych.

Jeszcze bardziej skomplikowane stosunki spotykałam u *Lyellia crispa* (Ryc. 40). Mamy tu 3 aparaty szparkowe, z których I-szy jest jednokomórkowy, III-ci dwukomórkowy. W aparacie środkowym (II) tylko w górnej części widać błonę, oddzielającą obie komórki zamykające, w dolnej części błony już niema. Najszerszą szparę posiada aparat szparkowy III-ci.



Ryc. 40. Anormalny układ aparatów szparkowych w postaci trojaków u *Lyellia crispa*. (P. × 300).

U *Polytrichum hyperboreum* i *Polytrichum gracile* spotykałam aparaty szparkowe bliźniacze, posiadające wspólną komorę przedechową.

U *Polytrichum strictum* obserwowałam kompleks szpar, z których jedna, środkowa

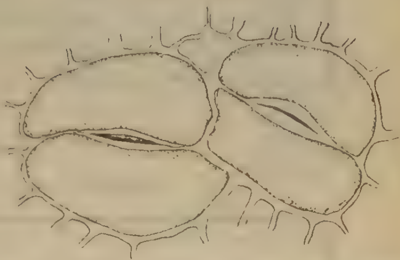
występowała w błonie, oddzielającej bliźniacze aparaty szparkowe. Jeden z nich był jednokomórkowy, drugi dwukomórkowy (Ryc. 41).

U *Polytrichum sexangulare* występują dwukomórkowe aparaty szparkowe, przylegające do siebie końcami komórek zamykających (Ryc. 42).

Zaznaczyć muszę, że podobnych anormalności nie spotykałam u *Polytrichaceae* z suchych stanowisk.



Ryc. 41. System szpar u *Polytrichum strictum*. (P. × 30).



Ryc. 42. Kompleks dwuaparatowy u *Polytrichum sexangulare*. (P. × 300).

Streszczenie.

1. Aparaty szparkowe u wspomnianych w pracy niniejszej gatunków z rodziny *Polytrichaceae* są dwukomórkowe.

2. Komórki zamykające tych aparatów mają kształt nasion fasoli, są mniej lub więcej wydłużone. Błony komórek zamykających są błonnikowe. Najgrubsze są błony brzuszne (od strony szpary) z wyjątkiem aparatu szparkowego u *Dendroligotrichum dendroides*, gdzie komórki zamykające mają najgrubsze błony zewnętrzne, przylegające do sąsiednich komórek skórki.

3. Wielkość komórek zamykających, wchodzących w skład aparatu szparkowego, u *Polytrichaceae* waha się na długość od 48—128 μ, a na szerokość od 16·2—31·2 μ, zależnie od środowiska, jak to widać z porównania niżej podanych tabel I i II.

4. U niektórych gatunków, rosnących w suchych środowiskach, wielkość komórek zamykających aparatu szparkowego zbliża się do wielkości komórek zamykających aparatu szparkowego mchów z mokrych stanowisk, np. w rodzaju *Psilopilum*:

Psilopilum trichodon	długość	k. z.	73·6 μ,	szerokość	24 μ,
Psilopilum australe	„	„	72 μ,	„	17·6 μ,
u rodzaju *Polytrichum*:					
Polytrichum piliferum	„	„	66 μ,	„	28 μ.

Tabela I.

Polytrichaceae z suchych stanowisk.

Nazwa gatunku	Długość komórek zamykających	Szerokość komórek zamykających
Polytrichum piliferum . . .	66 μ	28 μ
Polytrichadelphus rubiginosus	57 „	17·6 „
Dendroligotrichum dendroides	48 „	19·2 „
Oligotrichum hercynicum . .	48 „	16·2 „

Tabela II.

Polytrichaceae z mokrych stanowisk.

Nazwa gatunku	Długość komórek zamykających	Szerokość komórek zamykających
Batramiopsis Leseurii . . .	128 μ	24 μ
Polytrichum ohiense	76 „	31·2 „
„ *gracile*	76 „	21·6 „
„ *formosum* . . .	72 „	25·6 „

Tłumaczy się to tem, że u *Psilopilum* aparaty szparkowe są zagłębione i przykryte grubobłonnemi komórkami skórki, u *Polytrichum piliferum* natomiast aparaty szparkowe występują na szyjkach, koło których tworzy się głęboka rynienka, z zewnątrz zaś cała puszka i część sety okryte są czepcem. (U *Polytrichaceae* z mokrych stanowisk czepiec jest krótki, parasolowaty, nie pokrywa całkowicie puszki i nie przylega do niej).

5. Komórki zamykające aparatu szparkowego u *Polytrichaceae* zawierają chloroplasty i skrobię, a więc są częścią systemu asymilacyjnego sporofitu.

Wielkość szpary zależy od stopnia naświetlenia, często bowiem w aparatach szparkowych tego samego gatunku mchu szpary są różnej wielkości. Komory przedechowe aparatów szparkowych u *Polytrichaceae* mają kształt nieregularny, a wielkość ich jest różna, nieraz u aparatów szparkowych, występujących na tej samej puszce.

6. Liczba aparatów szparkowych na mm^2 oraz powierzchnia, na której występują, zależna jest w wysokim stopniu od środowiska, jak widać z załączonego zestawienia:

Tabela III.

Stanowisko	Nazwa gatunku	Ilość aparat. szparkowych na mm^3	Powierzchnia na której występują aparaty szparkowe
suche	*Polytrichum piliferum*	45	576504 μ^2
	Oligotrichum hercynicum . . .	25	518400 „
	Psilopilum trichodon	43	847800 „
	Politrichadelphus rubiginosus .	40	906400 „
mokre	*Polytrichum ohiense*	57	723456 μ^2
	„ *commune*	58	1243440 „
	„ *gracile*	88	1073880 „
	„ *formosum* . . .	95	1186920 „

7. Aparaty szparkowe jednokomórkowe, czterokomórkowe oraz aparaty szparkowe bliźniacze są prawdopodobnie tworami anormalnemi, ponieważ spotykają się stosunkowo rzadko, przyczem szpary w takich aparatach szparkowych są najczęściej bardzo wąskie lub zupełnie zamknięte.

Pracę niniejszą wykonałam w Zakładzie Botanicznym U. W. Czuję się w obowiązku złożyć wyrazy głębokiej wdzięczności kierownikowi Zakładu p. profesorowi Z. Wójcickiemu za cenne wskazówki.

Serdecznie dziękuję również p. mag. W. Beckerowi za okazywaną mi życzliwość i za wszelkie ułatwienia, z których niejednokrotnie korzystałam.

Z Zakładu Botaniki Ogólnej Uniwersytetu Warszawskiego.

Literatura.

1. Brown, Robert. Characters and description of Lyellia, a new genus of mosses (Leptostomum, Buxbaumia). — Transact. of the Linn. Soc. Vol. XII Teil II, 1818.

2. Bünger, E. Beiträge zur Anatomie der Laubmooskapsel. — Bot. Zentralblatt, 1890.

3. Engler A. und Prantl, K. Die natürlichen Pflanzenfamilien. — Bd. X, 1924 u. Bd. XI, 1925: Die Musci von F. V. Brotherus.

4. Goebel, K. Organographie der Pflanzen. — Zweiter Teil, Specielle Organogr. Jena 1915.

5. Haberlandt, G. Beiträge zur Anatomie und Physiologie der Laubmoose. — Prings. Jahrb. f. wiss. Bot. XVII. Heft 3, 359—498, 1886.

6. — Das Assimilationssystem der Laubmoossporogonien. — Flora 45, 1886.

7. Herzog, Th. Dr. Geographie der Moose. — Jena 1926.

8. Kuhlbrodt, H. Über die phylogenetische Entwicklung des Spaltöffungs-apparates am Sporophyten der Laubmoose. — Beitr. z. allgem. Bot. herausg. von Haberlandt, Bd. II, 1923.

9. Kraus, F. Ein Beitrag zur Kenntnis der Anatomie und Physiologie der Pteridophyten-spaltöffnungen. — Jahresberichte des Knabenseminars in Graz, 1914.

10. Lorch, W. Anatomie der Laubmoose. — Handbuch der Pflanzenanatomie K. Linsbauer, II. Abt, 2 Teil Bryophyten, Band VII. Berlin 1931.

11. Porsch, D. O. Der Spaltöffnungsapparat im Lichte der Phylogenie. — Jena 1905.

12. Roth, Georg. Die Europäischen Laubmoose. — Zweiter Bd. Leipzig 1905.

13. Schimper, Ph. W. Recherches anatomiques et physiologiques sur les mousses. — Strasbourg 1848.

14. Treviranus, L. C. Beiträge zur Pflanzenphysiologie. — Göttingen 1811.

Résumé.

1. Les appareils stomatiques chez les especès de la famille des *Polytrichaceae*, citées dans ce travail, se composent de deux cellules.

2. Les cellules stomatiques de ces appareils sont plus on moins allongées et ont la forme de graines d'haricot. Les membranes des cellules stomatiques sont formées de cellulose. Leurs membranes ventrales, concaves (du côté de l'ostiole) sont en général le plus épaisses. Comme exception il faut citer l'appareil stomatique chez le *Dendroligotrichum dendroides*, dont les cellules stomatiques ont — comme membranes les plus épaisses — les parois convexes, placées du côté des cellules épidermiques voisines.

3. Les dimensions des cellules stomatiques composant l'appareil stomatique, chez les *Polytrichaceae*, diffèrent visiblement:

la longueur varie entre 48 μ — 128 μ,
la largeur „ „ 16 μ — 31 μ.

Que ces dimensions dépendent du milieu, on peut le constater soi-même en examinant les données statistiques présentées sur le tableaux I et II.

Table I.

Les *Polytrichaceae* des milieux secs.

Le nom de l'espèce	La longueur des stomates	La largeur des stomates
Polytrichum piliferum . . .	66 μ	28 μ
Polytrichadelphus rubiginosus	57 „	17·6 „
Dendroligotrichum dendroides	48 „	19·2 „
Oligotrichum hercynicum . .	48 „	16·2 „

Table II.

Les *Polytrichaceae* des milieux humides.

Le nom de l'espèce	La longueur des stomates	La largeur des stomates
Batramiopsis Leseurii . . .	128 μ	24 μ
Polytrichum ohiense	76 „	31·2 „
„ *gracile*	76 „	21·6 „
„ *formosum* . . .	72 „	25·6 „

Table III.

Le milieu	Le nom de l'espèce	Le nombre d'appareils stomatiques sur mm^2	La surface sur laquelle sont rassemblés les appareils stomatiques
sec	*Polytrichum piliferum* . . .	45	576504 μ^2
	Oligotrichum hercynicum . .	25	518400 „
	Psilopilum trichodon . . .	43	847800 „
	Polytrichadelphus rubiginosus	40	906400 „
humide	*Polytrichum ohiense*	57	723456 μ^2
	„ *commune* . . .	58	1243440 „
	„ *gracile*	88	1073880 „
	„ *formosum* . . .	95	1186920 „

4. Il peut arriver pourtant que les dimensions des cellules stomatiques de l'appareil chez quelques espèces de mousses poussant dans les milieux secs s'approchent des dimensions de celles du milieu humide. Par exemple :

chez l'espèce *Psilopilum* :

Psilopilum trichodon la longueur des stomates 73·6 μ — largeur 24 μ,
Psilopilum australe „ „ „ „ 72 „ — „ 17·6 μ,

chez l'espèce *Polytrichum* :

Polytrichum piliferum la longueur des stomates 66 μ — largeur 28 μ.

Cela provient de ce que les appareils stomatiques, chez le *Psilopilum*, sont enfoncés au dessous de la surface de l'épiderme et couverts en partie par les cellules épidermiques dont les parois sont assez épaisses. Chez le *P. piliferum* au contraire les appareils stomatiques sont rassemblés sur la surface des styles près desquels se forme un profond canal, la boîte entière et une partie de seta étant couverts à l'extérieur du calyptra (chez les *Polytrichaceae* des milieux humides le calyptra est court, a la forme d'un parapluie, ne couvre pas entièrement la boîte et n'y atteint pas).

5. Les cellules stomatiques de l'appareil chez *Polytrichaceae* contiennent des chloroplastes et des graines d'amidon.

Les dimensions de la fente (ostiole) dépendent de l'intensité de la lumière, car très souvent les fentes dans les appareils des mousses de la même espèce sont de la même grandeur.

Les chambres sousstomatiques des appareils stomatiques chez *Polytrichaceae* ont une forme irrégulière et les dimensions des appareils rencontrés quelques fois sur la même boîte diffèrent visiblement.

6. Le nombre d'appareils sur un mm^2 et la surface sur laquelle ils sont rassemblés, dépendent beaucoup (comme on le voit des données statistiques) du milieu.

Les appareils stomatiques formés d'une ou de quatre cellules, et les appareils jumeaux, sont probablement des créations anormales, car on les rencontre relativement rarement et les fentes (les ostioles) de tels appareils sont le plus souvent très étroites ou n'existent pas du tout (les stomates sont fermées).

Institut de Botanique Générale de l'Université de Varsovie.

Rozwój ziarn pyłku u *Potamogeton perfoliatus* L.

(Die Entwicklung der Pollenkörner bei *Potamogeton perfoliatus* L.).

Napisała

EWA WIŚNIEWSKA.

Nieliczne prace cytologiczne o przedstawicielach rodziny *Potamogetonaceae* pochodzą z końca XIX i pierwszych lat XX wieku. Najwięcej danych dotyczy rozwoju żeńskiego i męskiego gametofitu i rozwoju tapet, pozatem spotykamy wzmianki o zapłodnieniu, rozwoju zarodka, bielma i o budowie cytologicznej korzenia. Zestawienie ważniejszych prac, dotyczących cytologji *Potamogetonaceae*, znajdujemy u Schürhoffa (1926), który podkreśla następujące cechy charakterystyczne tej rodziny: 1) występowanie *periplazmodium*, 2) trójjądrowość ziarn pyłku, 3) istnienie dwóch okryw zalążka oraz 4) tworzenie wielkiego wieszadełka. Jako cechę wyróżniającą rząd *Helobiae* wysuwa Schürhoff podział pierwotnej komórki bielma na dnie, z których jedna nie rozwija się dalej. Odnośnie do rodziny *Potamogetonaceae* stwierdza to tylko Murbeck (1902) dla *Ruppia rostellata*.

Pobieżne dane o rozwoju ziarn pyłku zawierają prace Grönlanda (1851), Hofmeistera (1852) i Rosenberga (1901) nad *Zostera marina* oraz praca Campbella (1897) o *Zannichellia palustris*. Nieco szczegółowsze są prace Murbecka (1902) o *Ruppia rostellata* i Wieganda (1899) o rozwoju ziarn pyłku u *Potamogeton foliosus*. Wiegand zwraca uwagę przedewszystkiem na stadjum *synizesis*, podkreślając szczególne zachowanie się jąderka, nad czem zatrzymam się w dalszej części swej pracy.

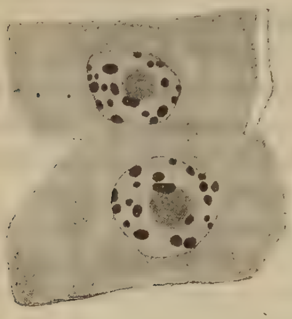
Materjał i metody.

Kłoski *Potamogeton perfoliatus* L. utrwalałam w płynie mocnym Flemminga lub w płynie Nawaschina (Karpetchenko, 1928). Oba utrwalacze dawały wyniki zadowalające; plazmoliza, jaką wywo-

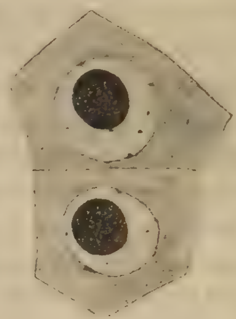
ływały, była naogół bardzo nieznaczna. Skrawki, grubości 7—10 μ, barwiłam hematoksyliną żelazową Heidenhaina i safraniną, podbarwiając błony zielenią jasną. Barwienie podwójne, jakiem się posługiwałam dla wyróżnienia jąderka (eozyna i błękit anilinowy, Schneider i Zimmermann, 1922, str. 121) nie dawało stałych rezultatów.

Struktura jąder w stożku wzrostu korzenia.

Jądra wegetatywne w komórkach tkanki twórczej korzenia należą do typu jąder o niewielkiej ilości karjotyny, występującej w postaci chromocentrów, różniących się pomiędzy sobą kształtem i wielkością; obok form kulistych występują elipsoidalne i sztabkowate. Ziarna te,



Ryc. 43. Komórki tkanki twórczej korzenia. Pod błoną jąder liczne chromocentry.



Ryc. 44. Komórki macierzyste pyłku. Brak chromocentrów w jądrach.

skupione przeważnie pod błoną jądra, połączone są między sobą bardzo delikatnemi nićmi (Ryc. 43) [1]). Chromosomy somatyczne są bardzo krótkie i drobne, tak jak i w podziałach allotypowych.

Rozwój ziarn pyłku.

W kłoskach u *Potamogeton* kwiaty dolne rozwijają się wcześniej niż górne, dzięki czemu na podłużnych przekrojach kłoska spotyka się często całe serje przejść pomiędzy różnemi okresami rozwojowemi ziaren pyłku. Pomimo to stadjum *synizesis*, zarówno jak i stadjum jednojądrowych ziarn pyłku, występuje często jednocześnie we wszystkich pręcikach na całej długości kłoska, z czego możemy wniosko-

[1]) Wszystkie rysunki zostały wykonane przy pomocy aparatu rysunkowego Reicherta, wszystkie z wyjątkiem Ryc. 48, 49 i 50, przy użyciu achromatycznej immersji 2 mm. Zeissa i okularu 15 ×, zaś Ryc. 48, 49 i 50 przy immersji apochromatycznej 1·5 mm. Zeissa i okularu 20 ×.

wać, że stadja te trwają bardzo długo. Różnice w rozwoju pręcików w kwiatach dolnych i górnych zaznaczają się natomiast bardzo wyraźnie we wszystkich pręcikach podczas podziałów allotypowych, np. gdy w pręcikach kwiatów dolnych mamy już do czynienia z tetradami, w górnych kwiatach tego samego kłoska komórki macierzyste pyłku mogą się znajdować dopiero w późnej profazie heterotypowej, co świadczy o szybkim przebiegu podziałów allotypowych. Pewne różnice w rozwoju występują również i w obrębie jednej komory. Dość często spotykałam wzdłuż podłużnej osi komory całe serje przejść od jednego do drugiego okresu karjokinezy, co ogromnie ułatwiało ustalenie kolejności zjawisk.

Archespor tworzy zwartą tkankę, wyróżniającą się wybitnie z pośród otaczających ją tkanek wegetatywnych. Komórki archesporjalne są znacznie większe od wegetatywnych, posiadają cytoplasmę gęstą, drobno kłaczkowatą. Wakuol brak zupełnie. Błony komórek są cienkie, tak jak i w tkance otaczającej. Jądra archesporjalne, odznaczające się ogromnemi kulistemi jąderkami, rozmiarem swym przewyższają jądra w tkankach sąsiednich. W miarę rozwoju archesporu struktura jąder ulega znacznym zmianom, dokonywującym się w ten sposób, że nie można dokładnie odgraniczyć momentu, w którym mamy do czynienia z dojrzałemi gotowemi do podziału komórkami macierzystemi od początku profazy podziału redukcyjnego. A mianowicie w archesporze zupełnie młodym jądra strukturą swą różnią się nieznacznie od jąder w tkankach somatycznych, co zaznacza również Wiegand (1899) odnośnie do *Potamogeton foliosus*. Karjotyna tworzy zupełnie jeszcze wyraźne, choć nieco mniejsze chromocentry i gęstszą niż poprzednio sieć nici. W stadjum późniejszem, kiedy prawie zupełnie ustały już podziały somatyczne, pod błoną jąder komórek archesporjalnych pozostały z dawnych chromocentrów ziarenka bardzo już drobne, a sieć nici bardziej się rozwinęła. Rozmiar jąder jest nieco większy niż w okresie poprzednim. Zwiększyła się również średnica jąderek. Po zakończeniu podziałów komórek archesporjalnych z chromocentrów nie pozostaje już prawie śladu: wnętrze jądra zajmuje splot słabo barwiących się nici (Ryc. 44). Średnica jąder wynosi obecnie około 6·5 μ, jąderek ± 3·5 μ.

Warstwa wyściełająca składa się najczęściej z jednej, rzadziej z dwóch lub trzech warstw komórek. Błony ich są bardzo cienkie, cytoplazma różni się od cytoplazmy komórek macierzystych dużą ilością wakuol, rozrzuconych na terenie całej komórki. Jądra ich wyróżniają się od jąder komórek macierzystych pyłku mniejszem nieco jąderkiem i strukturą, która jest zbliżona do struktury jąder soma-

tycznych w korzeniu: pod powierzchnią ich bowiem występują liczne bryłki karjotyny, łączące się między sobą zapomocą cienkich nici (Ryc. 45). Komórki warstwy wyścielającej są w tym okresie z reguły jednojądrowe; dwujądrowe spotykają się wyjątkowo.



Ryc. 45. Komórki warstwy wyścielającej przed podziałem komórek macierzystych.

We wczesnej profazie podziału redukcyjnego komórki macierzyste ulegają pod wpływem utrwalacza znacznej plazmolizie. Komórki macierzyste wykazują teraz znaczną różnicę w wielkości w porównaniu ze stadjum poprzedniem. Nastąpił również znaczny wzrost jąder: średnica ich wynosi teraz około 9—10 μ. Jąderko wzrasta stosunkowo nieznacznie (średnica jego dochodzi do 4 μ). Cienkie nici leptotenowe układają się na niektórych odcinkach po dwie równolegle do siebie. Wkrótce potem następuje okres skurczu, który trwa bardzo długo, na co wskazuje bardzo częste spotykanie go na preparatach. Błony komórek macierzystych, nadal cienkie, zaczynają bardzo nieznacznie oddzielać się od siebie w rogach komórek. Średnica jądra wynosi teraz ± 10—11 μ. Kłębek synaptyczny stanowi zbitą masę nici, w obrębie których występuje ponadto niewielka ilość ziarn różnej wielkości, skupionych pod błoną jądra (Ryc. 46).

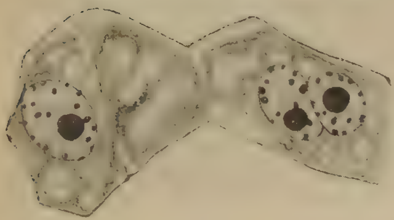


Ryc. 46. Komórki macierzyste pyłku w stadjum synizesis.

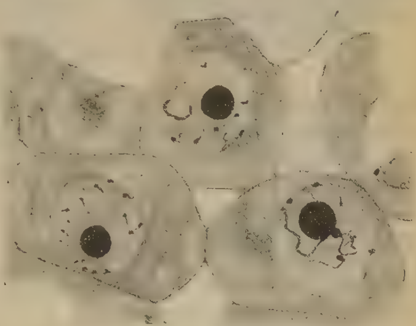
Jąderko posiada wielkość tę samą, co w stadjum leptotenu (średnica 3·5—4 μ). Kształt jego pozostaje naogół kulisty, choć nieraz ulega ono spłaszczeniu. Na powierzchni jąderka występuje często mały utwór kulistego kształtu, zupełnie podobny do tego, który opisał Wiegand (1899) u *Potamogeton foliosus*, uważając go, na zasadzie stosunku do barwników za jąderko właściwe. Zachowanie się jąderka w późniejszej profazie, od synizesis do metafazy, kiedy chromosomy są już ostatecznie wykształcone, wskazuje wyraźnie na to, że jąderko nie jest zapasem karjotyny, zużywającym się na wytworzenie chromosomów [1]).

[1]) Wiegand wyróżnia jąderko na podstawie podwójnego barwienia safraniną i fioletem gencjanowym. Wyniki jednak barwienia, na co zwrócił już uwagę Hol-

Komórki warstwy wyściełającej rosną znacznie w stadjum leptotenu i synizesis (por. Ryc. 45 i 47). W stadjum synizesis błony ich są jeszcze wszędzie zachowane. Już w tym okresie komórki tapetowe są bardzo często dwujądrowe, wyjątkowo trój lub czterojądrowe. Oba jądra komórki przylegają zwykle do siebie, lecz nie zlewają się ani teraz ani w stadjach późniejszych. W pachytenie i w późniejszych stadjach rozwoju ziarn pyłku plazmoliza, wywoływana przez utwalacz, jest znikoma lub nie występuje prawie zupełnie; proces oddzielania się i zaokrąglania komórek postępuje dalej i w końcu pachytenu rozluźnienie tkanki jest już znaczne. Stopniowe rozplątywanie kłębka prowadzi do luźnego rozłożenia nici na terenie całego jądra. W niektórych miejscach widać budowę podwójną nici, nigdy



Ryc. 47. Komórki warstwy wyściełającej w okresie synizesis.



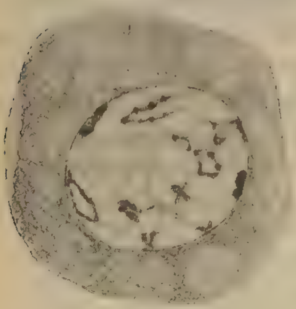
Ryc. 48. Komórki macierzyste pyłku w stadjum pachytenu.

natomiast nie stwierdziłam struktury perełkowatej, którą opisał Wiegand (1899) u *Potamogeton foliosus*, a Murbeck (1902) u *Ruppia rostellata* (Ryć. 48).

W stadjum strepsitenu chromosomy posiadają zarysy niewyraźne i połączone są między sobą licznemi anastomozami (Ryc. 49). Dopiero teraz przejawiają się zmiany w strukturze chromosomów w postaci dość licznych zgrubień. Dalszy rozwój chromosomów prześledzić można dość łatwo, gdyż w jednej i tej samej komorze występują często ciągłe serje przejściowych stadjów od strepsitenu do diakinezy i od diakinezy do metafazy. Przedewszystkiem następuje znaczne

ferty (1901) w swej pracy nad *Potamogeton natans*, są bardzo względne, zależą one od okresu podziału, sposobu utrwalania, kolejności barwienia, różnicowania i t. p. Fakty te przemawiają przeciw przypisywaniu barwieniu decydującego znaczenia w wyróżnianiu jąderka, co zresztą stwierdzono wielokrotnie i na innych objektach.

grubienie i skracanie chromosomów, w rezultacie czego otrzymujemy coraz to ciemniejsze ich zabarwienie. Postać gemini bywa bardzo różna (Ryc. 50): najczęściej oba chromosomy stykają się końcami, tworząc pierścień; czasem połączone są jednym tylko końcem, podczas gdy dwa pozostałe bardzo są od siebie oddalone; nieraz



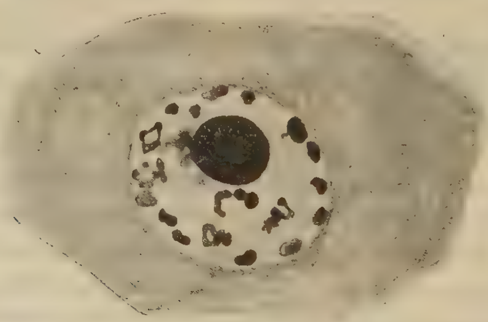
Ryc. 49. Jądro komórki macierzyste pyłku w stadjum późnego strepsitenu.



Ryc. 50. Różne postacie gemini w późnej diakinezie.

spotykamy gemini w kształcie krzyży, litery Y, ósemki i t. p. Grubienie i skracanie się chromosomów posuwa się dalej: każdy z chromosomów przybiera wreszcie postać w przybliżeniu kulistą, przyczem oba chromosomy jednej pary tak zlepiają się ze sobą (po zastosowaniu utrwalacza Nawaschina), że w utworzonych w ten sposób bryłkach karjotyny nie można już wyróżnić obu jednostek. Mniejwięcej taki sam wygląd gemini opisuje Wiegand (1899) u *Potamogeton foliosus*, ale wg. tego autora chromosomy łączą się w pary dopiero po przybraniu kształtu niezupełnie regularnych bryłek.

Na terenie jednego jądra nie wszystkie chromosomy rozwijają się jednocześnie. Kiedy część gemini tworzy już kuliste lub elipsoidalne



Ryc. 51. Komórka macierzysta pyłku w stadjum diakinezy.

bryłki, inne są jeszcze znacznie dłuższe i cieńsze (Ryc. 51). Formę ostateczną przybierają wszystkie gemini tuż przed samą metafazą. Diakineza jest jedynem stadjum, w którem jest możliwe policzenie chromosomów. Haploidalna liczba chromosomów tego gatunku wynosi najprawdopodobniej 24.

Jąderko posiada w diakinezie kształt kulisty. Wielkość jego (średnica 3·5—4 μ) i sposób barwienia się są takie same, jak we wczesnej profazie. Nie zachodzą w niem absolutnie żadne zmiany, które świadczyłyby o zużywaniu jego substancji. Ten właśnie fakt przeczy zupełnie wyraźnie przypuszczeniu Wieganda, wg. którego utwór ten stanowi zapas chromatyny; gdyby tak było istotnie, to jąderko musiałoby zanikać w miarę tworzenia chromosomów, tymczasem zaś trwa ono w postaci zupełnie niezmienionej aż do chwili, kiedy chromosomy są już całkowicie wykształcone. Poza dużem jąderkiem występują czasem w jądrze jedno lub parę jąderek mniejszych.

Przejście od diakinezy do metafazy jest bardzo szybkie. Najpierw raptownie rozpuszcza się jąderko, ginie błona jądra i karjolimfa ulega zmieszaniu z cytoplazmą. Potem dopiero gemini skupiają się stopniowo w płytkę. Wrzeciono zaznacza się dopiero z chwilą utworzenia płyty, przyczem odrazu jest dwubiegunowe o ostro zakończonych wierzchołkach. Nigdy nie obserwowałam wrzeciona wielobiegunowego, które wg. Wieganda (1899) występuje zawsze w tym okresie u *Potamogeton foliosus* a wg. Murbecka (1902) czasem u *Ruppia rostellata*. Moment, w którym wrzeciono powstaje u *Potamogeton perfoliatus*, jest późniejszy, niż opisują wspomniani autorzy. Struktura wrzeciona (po utrwaleniu płynem Nawaschina lub Flemminga) jest włóknista. Z pośród ogółu nici wyróżniają się nieraz włókna grubsze, przyczepione do chromosomów. Oś wrzeciona, stanowiąca równocześnie oś podziału komórki, przebiega w każdej komórce w dowolnym kierunku.



Ryc. 52. Wczesna anafaza podziału redukcyjnego.

W płycie metafazowej chromosomy tworzą zbitą masę. Płyta niezawsze jest zupełnie regularna: część chromosomów wysuwa się nieraz poza jej obręb. Zależy to prawdopodobnie od wczesnego rozchodzenia się niektórych gemini.

W okresie metafazy błony komórek macierzystych są nadal cienkie i już w niewielu miejscach stykają się ze sobą. Liczne komórki są już całkowicie od innych oddzielone.

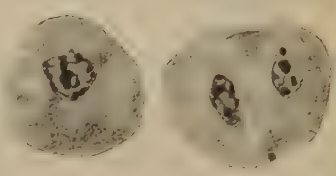
Chromosomy nie rozchodzą się równocześnie: często gemini, opóźnione w stosunku do innych, łączą dwie zbite grupy anafazowe, dzięki czemu cały obraz przypomina pseudoamitozę (Ryc. 52).

Czasem widoczne są grubsze włókna łączące dwa rozchodzące się chromosomy jednej pary. W późnej anafazie różnice te wyrównywują się. W tym okresie wrzeciono zatraca ostre bieguny i wyraźna

pozostaje tylko ta jego część, która leży między rekonstruującemi się jądrami. Jednocześnie pojawiają się w cytoplazmie czarno wybarwiające się hematoksyliną ziarenka kulistego kształtu i różnej wielkości. Ciała te odpowiadają pozajądrowym jąderkom Strasburgera. Nic jednak nie przemawia za pochodzeniem ich z jąderek. Utwory te zanikają w późnej telofazie. Błona tworzy się u *Potamogeton perfoliatus* w końcu podziału heterotypowego, tak jak u większości



Ryc. 53. Wczesna telofaza podziału redukcyjnego.



Ryc. 54. Telofaza podziału redukcyjnego.

Monocotyledones. Wrzeciono, które zaznacza się w anafazie, jako jaśniejsza strefa o słabo włóknistej strukturze, rozszerza się, przybierając charakterystyczny beczułkowaty kształt fragmoplastu. Na terenie jego powstaje błona, tworząca się od środka ku brzegom komórki. Zapoczątkowanie błony przypada w tym okresie, kiedy anafazowe masy karjotyny nie uległy jeszcze żadnym widocznym zmianom. Po pewnym czasie zbite dotychczas chromosomy zaczynają się rozsnuwać, a między niemi pojawia się sok jądrowy (Ryc. 53 i 54). Wskutek zlepiania się chromosomów pod wpływem utrwalacza tworzą się nieregularne bryłki karjotyny. Bryłki te połączone są między sobą anastomozami. Jądra pochodne leżą teraz znacznie bliżej tworzącej się błony komórki niż w późnej anafazie. Mniejwięcej równocześnie z pojawieniem się błony jądrowej tworzą się w jądrach pochodnych jąderka. Są one dużo mniejsze niż w jądrach komórek macierzystych i często silnie spłaszczone. Jąderka obu jąder pochodnych powstają symetrycznie po obu stronach tworzącej się błony komórki.

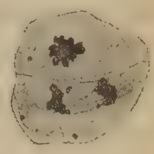


Ryc. 55. Diada.

Diady posiadają wielkość tę samą, co profazowe komórki macierzyste. Dłuższa średnica diady wynosi około 18 μ (Ryc. 55). Kształt ich jest zlekka wydłużony. Błona dzieląca obie komórki, tworzy się zwykle w płaszczyźnie osi krótszej diady. Proces oddzielania i zaokrąglania się komórek macierzystych wyjątkowo tylko nie dobiegł

jeszcze do końca, naogół diady są już całkowicie oddzielone od siebie. Ich błony zewnętrzne nadal pozostają cienkie. Jądra diad są znacznie mniejsze od jąder komórek macierzystych z okresu profazy podziału redukcyjnego. Są one bardzo silnie spłaszczone w kierunku krótszej osi komórki, widziane z góry mają kształt kół, z boku zaś bardzo wydłużonych elips (średnica dłuższa elips wynosi $\pm$ 7·5 μ, krótsza 3—4 μ). Karjotyna występuje w postaci nieregularnych skupień, połączonych cienkiemi nićmi. Chromocentry te skupione są przeważnie pod błoną jądra. Liczba ich i wielkość bywa różna (patrz str. 164).

Od profazy heterotypowej do okresu, w którym utworzone już zostały diady, nastąpiły znaczne zmiany w warstwie wyściełającej. Komórki jej są teraz znacznie większe. Błony, aczkolwiek wszędzie jeszcze zachowane, barwią się słabo i zaczynają się już rozpuszczać. Proces ten jest mniejwięcej równoczesny we wszystkich ich częściach, stosunkowo najwolniej postępuje w rogach komórek. Na powierzchni jąderek występują często niewielkie wypukłości i elipsoidalne bryłki, które tworzą się prawdopodobnie przez pączkowanie jąderka. Za przypuszczeniem tem przemawiają zjawiska obserwowane w jądrach komórek wyściełających w czasie, gdy tworzą one periplazmodium (por. str. 167). Podczas podziału redukcyjnego macierzystych komórek pyłku nie obserwowałam w dwujądrowych komórkach tapetowych ani zlewania się jąder ani też ich podziałów.

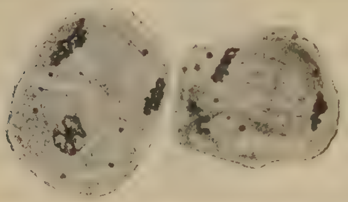


Ryc. 56. Anafaza podziału homeotypowego.

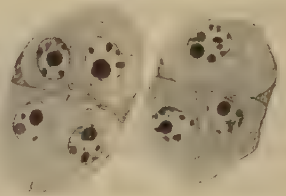
Po bardzo krótkiej interkinezie następuje podział homeotypowy. Nie mogłam stwierdzić na swoim materjale, w jaki sposób wyróżnicowują się chromosomy z interkinetycznych skupień karjotyny. Przejście do metafazy jest równie raptowne jak w podziale heterotypowym. Czasami po zaniknięciu błony jądrowej chromosomy rozpraszają się na większym obszarze komórki, później jednak skupiają się w płytę. Równocześnie tworzy się wrzeciono o ostro ściętych wierzchołkach. Płaszczyzny podziału są zupełnie dowolne w obu komórkach (Ryc. 56 i 57). Rozchodzenie się chromosomów jest równoczesne w przeciwieństwie do podziału redukcyjnego. W późnej anafazie pojawiają się nagle pozajądrowe jąderka. Tworzenie fragmoplastu, zakładanie błony i pojawienie się karjolimfy odbywa się zupełnie tak samo, jak w podziale redukcyjnym.

Tetrady oddzielone są już całkowicie od siebie. Wielkością nie różnią się od profazowych komórek macierzystych i od diad (podłużna średnica wynosi $\pm$ 18 μ), (Ryc. 58). Zewnętrzne ich błony,

stanowiące dawne błony komórek macierzystych, pozostają naogół cienkie aż do utworzenia ziarn pyłku. Czasem ulegają w niektórych częściach bardzo nieznacznemu zgrubieniu, lecz nigdy nie tworzą się grube opony, jakie występują w tych okresach u wielu innych roślin. Elipsoidalne jądra tetrad są nieco mniejsze niż jądra diad i mniej od nich spłaszczone. Średnica dłuższa jąder wynosi teraz ± 6·5 μ, a krótsza ± 4 μ. Struktura ich jest bardzo podobna do struktury jąder w diadach.

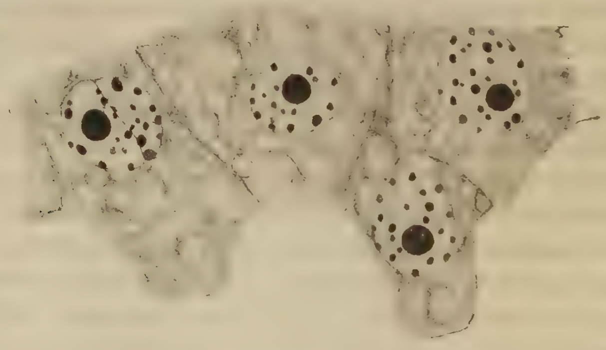


Ryc. 57. Telofaza podziału homeotypowego.



Ryc. 58. Tetrady.

Komórki warstwy wyściełającej podczas podziału homeotypowego powiększyły się dość znacznie. Równocześnie rozpoczął się proces wkraczania ich wgłąb komór pyłkowych i otaczania tetrad

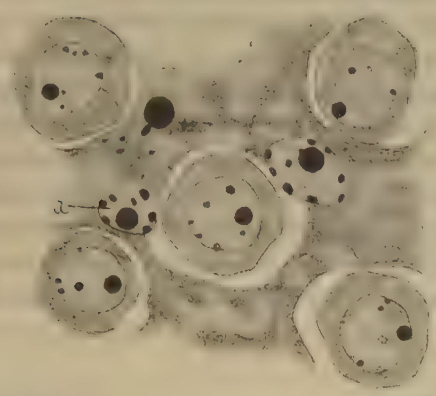


Ryc. 59. Komórki warstwy wyściełającej bezpośrednio przed utworzeniem periplasmodium.

od strony ścian komory. Błony komórek tapetowych w tym okresie zanikają nadal i pozostają jeszcze tylko w nielicznych miejscach. Po utworzeniu tetrad, a tuż przed oddzieleniem się gonów, nagie komórki warstwy tapetowej wkraczają już dość głęboko na terytorjum komór (Ryc. 59). Protoplazmy poszczególnych komórek przylegają teraz do siebie, ale jeszcze się nie zlewają.

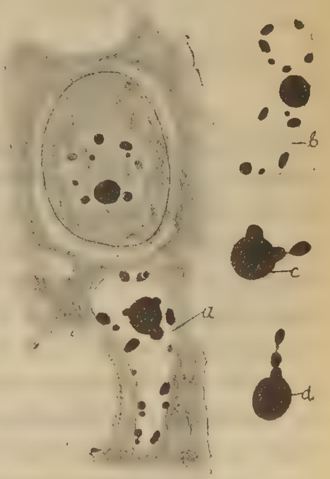
Wkrótce po utworzeniu tetrad komórki ich oddzielają się od siebie i zaokrąglają się, tworząc luźno leżące ziarna pyłku (Ryc. 60).

Równocześnie komórki warstwy wyściełającej wydają bogato rozwinięte periplazmodium, charakterystyczne i dla innych przedstawicieli rzędu *Helobiae* (Ryc. 60 i 61). Jądra syncytium rozmieszczone są na terenie całej komory w wolnych przestrzeniach między ziar-



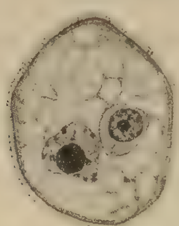
Ryc. 60. Jednojądrowe ziarna pyłku pogrążone w periplasmodium wkrótce po jego utworzeniu.

nami pyłku. Początkowo mają kształt kulisty lub elipsoidalny, później jednak, w miarę wzrostu ziarn pyłku i zmniejszania się wolnych przestrzeni między niemi, kształt ich się zmienia, stają się znacznie dłuższe i powyginane. Nigdy jednak nie widziałam form ameboidalnych, opisywanych przez Tischlera (1915) u *Commelina coelestis*. Często jądra tworzą większe skupienia i przylegają do siebie, nigdy jednak nie zlewają się, choć nieraz granice ich dość trudno wyróżnić. Na powierzchni jąderka, które jest teraz znacznie większe niż w okresach poprzednich, występują kuliste lub elipsoidalne bryłki, tworzące nieraz całe łańcuchy (Ryc. 61 *c* i *d*). Część ich wystaje zaledwie ponad powierzchnię jąderka w postaci niewielkich wypukłości. Zjawisko to sprawia wrażenie pączkowania jąderka (por. str. 165). Tuż pod błoną występują liczne silnie wybarwiające się hematoksyliną bryłki różnej wielkości.

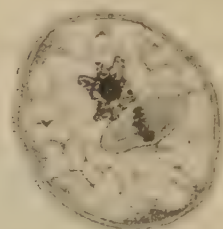


Ryc. 61. Stadjum nieco późniejsze przed podziałem jądra pierwotnego ziarn pyłkowych; *a*, *d* i *e* — „pączkowanie“ jąderka w wolnych jądrach; *b* — wolne jądro.

Z chwilą wyodrębnienia ziarn pyłku rozpoczyna się okres intensywnego ich wzrostu. Poszczególne ziarna, których średnica wynosiła początkowo ± 12 μ, stają się tak wielkie, jak poprzednio całe tetrady, średnica ich wynosi ± 18 μ (Ryc. 61), kształt ich staje się bardziej regularny. Jednocześnie charakter ich błon, cytoplazmy i jąder ulega znacznym zmianom. Błony zaczynają stopniowo grubieć. Możemy teraz już wyróżnić intinę i exinę, różnie barwiące się zielenią jasną. Exina posiada zgrubienia, tworzące na jej zewnętrznej powierzchni sieć nieregularnych wielokątów. Listewki te, intensywnie pochłaniające safraninę, wchodzą dość głęboko do wnętrza błony. Podobieństwo pierwotnej błony ziarn pyłku do intiny i odrębny charakter exiny przemawiają za tem, że intina stanowi pierwotną błonę ziarn, exinę zaś najprawdopodobniej wytwarza plasma periplazmodium, tak jak to opisuje Tischler (1915) u *Commelina coelestis*. Środek ziarna pyłkowego zajmuje jądro, wypełniające znaczną część komórki. Karjo-



Ryc. 62. Dwujądrowe ziarno pyłku.



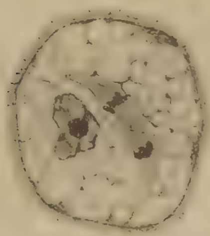
Ryc. 63. Metafaza podziału jądra komórki generatywnej.

tyna rozproszona jest pod błoną jądrową w postaci nielicznych i niewielkich stosunkowo ziarn różnej wielkości, połączonych cienkiemi nićmi. W miarę wzrostu ziarn rosną również i jądra; w czasie wzrostu jądra zwiększa się przedewszystkiem ilość karjolimfy, wskutek czego jądro wydaje się uboższe w karjotynę. Jąderka, często położone ekscentrycznie, są bardzo niewielkie w porównaniu z jąderkami w jądrach komórek macierzystych.

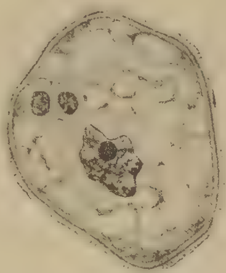
Na swych preparatach nie widziałam podziału pierwotnego jądra w ziarnie pyłku. Podczas tego podziału ginie periplazmodium, z którego w stadjum dwujądrowych ziarn pyłku niema już ani śladu.

Po utworzeniu komórki generatywnej ziarna pyłku już nie rosną, średnica ich wynosi teraz ± 21 μ (Ryc. 62). Ostatecznie zostały wykształcone także ich błony; exina i intina posiadają grubość mniejwięcej taką samą. Ziarna pyłku wypełnione są teraz skrobią, której duże elipsoidalne ziarna leżą gęsto obok siebie w cytoplazmie, two-

rzącej nieco większe skupienia tylko pod powierzchnią ziarn pyłku. Wewnątrz ziarna leży jądro wegetatywne i komórka generatywna. Jądro wegetatywne jest mniejsze od pierwotnego jądra ziarn pyłku (± 7 μ średnicy) i odznacza się nieregularnym kształtem. Karjotyna tworzy gęstą sieć z rozsianemi na jej powierzchni ziarenkami. Ziarnistości te są bardzo drobne i liczne. Różnią się one znacznie od zwykłych chromocentrów. Wytwarzanie tych ziarnistości wraz ze wzrastającą nieregularnością kształtu jądra jest oznaką rozpoczynającej się degeneracji. W pobliżu jądra wegetatywnego leży niewielka komórka generatywna. Najpierw, po oddzieleniu się od błony ziarna pyłku, ma ona kształt w przybliżeniu kulisty, potem staje się elipsoidalna i wrzecionowata, podobnie jak u *Potamogeton foliosus* (Wiegand, 1899). Cienka błona komórki generatywnej wygina się nieraz pod naciskiem ziarn skrobi. Cytoplazma jej pozbawiona jest wakuol.



Ryc. 64. Anafaza podziału jądra komórki generatywnej.



Ryc. 65. Dojrzałe trójjądrowe ziarno pyłku.

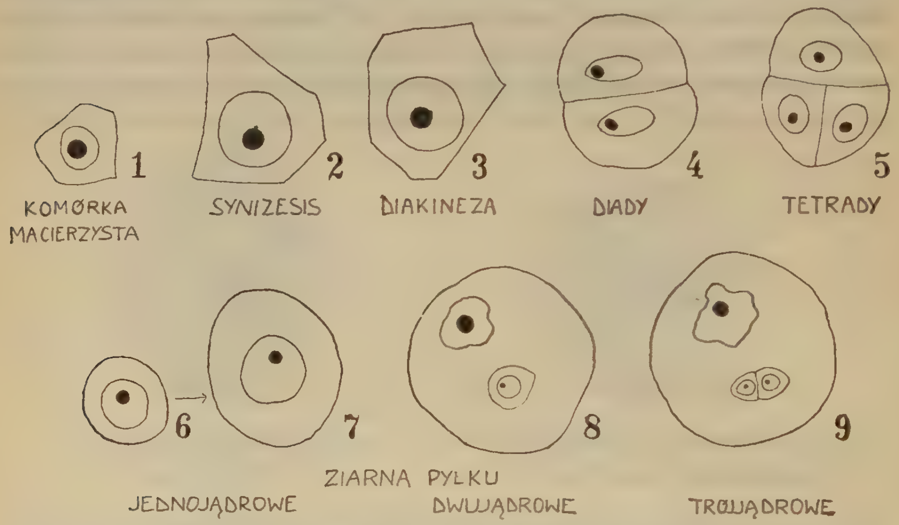
Średnica jądra (± 3·5 μ) jest prawie dwa razy mniejsza od średnicy jądra wegetatywnego. Pod błoną jądrową rozmieszczone są liczne bryłki karjotyny. Jąderko jest niewielkie, jak zwykle zresztą w komórkach rozrodczych. Średnica jego nie przekracza 1 μ.

Komórka generatywna dzieli się wtedy, gdy ziarna spoczywają jeszcze w komorze pyłkowej. Zjawisko to jest charakterystyczne dla całego rzędu *Helobiae*. Jądro wegetatywne leży podczas podziału w pobliżu komórki generatywnej i nieraz do niej przylega. W tym czasie ulega ono dość daleko posuniętej degeneracji: pod błoną jądra występują liczne drobne ziarna i gęsta sieć ciemno wybarwiających się włókien, a kształt jego staje się coraz bardziej nieregularny i często tworzą się palczaste wypustki (Ryc. 63—65).

Dojrzały pyłek trójjądrowy posiada wielkość tę samą co pyłek dwujądrowy, gdyż w okresie podziału komórki generatywnej ziarno pyłku już nie rośnie (Ryc. 65). Komórki generatywne połączone są

ze sobą przez cały czas pozostawania pyłku w komorze. Wg. Wieganda (1900) komórki generatywne u *Potamogeton foliosus* nie oddzielają się od siebie nawet w kiełkującej łagiewce pyłkowej i w tym stanie dostają się w pobliże komórki jajowej, którą w końcu zapładnia jedno z jąder. Między obydwiema komórkami generatywnemi niema widocznych różnic. Jądra ich są bardzo niewielkie (średnica ich wynosi $\pm$ 3·5 μ) i posiadają kształt w przybliżeniu kulisty. Jąderka rozmiarem swym nieznacznie wyróżniają się od chromocentrów.

W rozwoju ziarn pyłku u *Potamogeton perfoliatus*, jak widać z powyższego opisu, istnieją dwa długotrwałe okresy bardzo intensywnego wzrostu, w których średnice komórek powiększają się pra-



Ryc. 66. Komórki, jądra i jąderka w różnych okresach rozwoju ziarn pyłku u *Potamogeton perfoliatus* L.

wie dwukrotnie, a mianowicie we wczesnej profazie podziału redukcyjnego przed stadjum pachytenu i po utworzeniu jednojądrowych ziarn pyłku podczas trwania periplazmodium.

Poniżej załączony rysunek (Ryc. 66) i tabela z danemi liczbowemi zaznajamiają bliżej ze wzrostem komórek, jąder i jąderek.

Wreszcie pozwolę sobie zwrócić uwagę na fakt częstego wyrodnienia komórek pyłkowych u *Potamogeton perfoliatus.* W pewnych okresach rozwoju pyłku znajdowałam dość często objawy degeneracji. W niektórych kłoskach wszystkie kwiaty rozwinięte są normalnie. Czasem w jednym kwiecie część komór rozwija się normalnie, część zaś ulega zwyrodnieniu. W innych wreszcie kłoskach wszystkie kwiaty ulegają całkowitej degeneracji.

Tabela I.

Średnice komórek, jąder i jąderek w różnych okresach rozwoju ziarn pyłku u *Potamogeton perfoliatus L.*

	Średnice					
	komórki		jądra dłuższa	jądra krótsza	jąderka	
Komórki macierzyste pyłku			± 6·5 μ		± 3·5 μ	
Synizesis Diakineza	17—20 μ		10—11 μ		3·5—4 μ	
Diady	około 18 μ		±7·5	— ±3—4 μ	± 2 μ	
Tetrady			±6·5 μ	- +4 μ	± 1·8 μ	
Ziarna pyłku zaraz po utworzeniu	± 12 μ		± 7 μ		± 2 μ	
Ziarna pyłku przed podziałem jądra	± 18 μ					
	weg.	gen.	weg.	gen.	weg.	gen.
Ziarna pyłku dwujądrowe Ziarna pyłku trójjądrowe	około 21	± 6 μ	± 7 μ	± 3·5 μ	± 2·5 μ	± 1 μ 0·5—1 μ

weg. — dane dotyczące komórki wegetatywnej; gen. — komórki generatywnej

Najwcześniejszy okres, w którym występuje degeneracja komór, to okres drugiego podziału allotypowego. Błony diad ulegają skurczeniu i sfalowaniu, a protoplasma ich pochłania bardzo silnie barwniki. Najcharakterystyczniejszą cechą jest skurcz komórek.

Najczęściej jednak spotykałam anormalności zaraz po wytworzeniu ziarn pyłku i periplazmodium. W tym okresie liczba anormalnie rozwiniętych komór wynosiła około 50%. Błony ziarn pyłkowych ulegają wielkiej deformacji: kształt ich staje się półksiężycowaty lub półkulisty, a nieraz wygięcia są tak silne, że ziarna przybierają kształt gwiazd. Cytoplazma silnie pochłania barwniki. Wygląd jąder nie ulega zmianie, czasem jednak pojawiają się w nich liczne ziarnistości. Jądra periplazmodium ulegają często hypertrofji.

Zusammenfassung.

Die Zytologie der Familie der *Potamogetonaceen* ist sehr wenig bekannt. Die Zusammenstellung der wichtigsten Arbeiten finden wir bei Schürhoff (1926). Einige Angaben über die Entwicklung der Pollenkörner enthalten die Arbeiten von Grönland (1851), Hofmeister (1852) und Rosenberg (1901) über *Zostera marina* und

von Campbell (1897) über *Zannichellia palustris.* Etwas ausführlicher sind die Arbeiten von Murbeck (1902) über *Ruppia rostellata* und von Wiegand (1899) über die Entwicklung der Pollenkörner bei *Potamogeton foliosus.* Wiegand beachtete vor allem das sonderbare Verhalten des Nucleolus im Stadium der synaptischen Ballung.

Die Ährchen von *Potamogeton perfoliatus* L. fixierte ich in Flemming's (stark) und Nawaschin's Flüssigkeiten und färbte die Schnitte nach der gewöhnlichen Eisenhaematoxylinmethode.

Die Archesporzellen unterscheiden sich von den vegetativen Zellen vor allem dadurch, dass es in ihrem Zytoplasma keine Vakuolen gibt. An der Oberfläche der Kerne liegen zahlreiche von dünnen schwach sichtbaren Fäden verbundene, Chromocentren, die auch für die meristematischen Zellen der Wurzelspitze charakteristisch sind. Während der Entwicklung des Archespors verändert sich die Struktur der Kerne: aus den verschwindenden Chromocentren entstehen sehr dünne Fäden. Nach der Beendigung der vegetativen Teilungen — wenn wir es also schon mit Pollenmutterzellen zu tun haben, ist von den ehemaligen Chromocentren schon keine Spur mehr vorhanden (Fig. 44).

Am Anfang der heterotypischon Prophase wachsen die Kerne sehr stark: ihr Diameter vergrössert sich von 6·5 auf 10 μ. Die dünnen Leptotänfäden beginnen sich paarweise zu gruppieren. Die danach kommende synaptische Ballung dauert sehr lange, wofür die Tatsache spricht, dass ich dieses Stadium sehr oft auf meinen Präparaten fand (Fig. 46). An der Oberfläche des Nucleolus sehen wir oft in diesem Stadium ein kleines, kugelförmiges Gebilde. Ein ähnliches Gebilde beschreibt Wiegand bei *Potamogeton foliosus.* Nach diesem Verfasser färbt sich der Nucleolus wie Chromatin, das kleine Gebilde dagegen wie ein Nucleolus. Er ist der Meinung, dass der Nucleolus eine Reservesubstanz sei, welche an der Entwicklung der Chromosomen Anteil nimmt, während das kugelige Gebilde dagegen dem eigentlichen Nucleolus entspricht. Wir wissen aber, dass bei Färbung mit Safranin-Gentianaviolett, welches von Wiegand benutzt wurde, die Ergebnisse vom Stadium der Karyokinese, von der Fixierung u. s. w. im starken Grade abhängen, dass sie also sehr verschieden ausfallen können. Wir dürfen also nicht den Ergebnissen dieser Doppelfärbung eine entscheidende Bedeutung zuschreiben, was auch an anderen Objekten bestätigt wurde. Die Tatsache, dass in der späten Prophase der heterotypischen Teilung (bis zur Metaphase), wenn die Chromosomen schon ganz entwickelt sind, die Gestalt und die Färbung des Nucleolus sich gar nicht verändern,

weist sehr deutlich darauf hin, dass der Nucleolus keinenfalls eine Reservesubstanz für das Chromatin darstellt.

Die allmählige Entwirrung des synaptischen Knäuels führt zur lockeren Ausbreitung der Pachytenfäden, die, wie man es an einigen Stellen sieht, sich aus zwei parallelen Fäden zusammensetzen (Fig. 48). Im Strepsitänsstadium liegen die Chromosomen, die zunächst noch sehr lang und dünn sind, paarweise an der Oberfläche des Kerns. Sie sind mit Anastomosen verbunden (Fig. 49). Allmählig verkürzen sie sich und werden dicker, indem sie die Gestalt der diakinetischen Bivalente annehmen (Fig. 50 u. 51). Nicht alle Gemini in demselben Kerne entwickeln sich gleichzeitig. Der Schwund des Nucleolus und der Kernmembran, wie auch die Bildung der Äquatorialplatte spielen sich plötzlich ab. Für die frühe Anaphase der ersten Teilung ist das nicht gleichzeitige Auseinandergehen der Chromosomen charakteristisch (Fig. 52). Die Zellplatte zwischen den Tochterzellen bildet sich auf gewöhnliche Weise in der späten Anaphase. In der Telophase beginnen sich die eng geballten Chromosomengruppen zu lockern, und in den sich rekonstruierenden Tochterkernen erscheint die Karyolymphe. Beide Kerne nähern sich jetzt der entstehenden Zellwand (Fig. 53 u. 54).

Die Interkinese ist sehr kurz (Fig. 55). Aus den unregelmässigen interkinetischen Chromatinklumpen entwickeln sich schnell die Chromosomen. Ihr Auseinandergehen erfolgt bei dieser Teilung gleichzeitig (Fig. 56 u. 57).

Sofort nach Bildung der Tetraden (Fig. 58) trennen sich ihre Zellen voneinander und bilden auf diese Weise freie Pollenkörner. Die Zellen des Tapetums bilden gleichzeitig reiches Periplasmodium (Fig. 60). Jetzt beginnen die Pollenkörner, im Periplasmodium versunken, sehr intensiv zu wachsen und werden so gross, wie es früher ganze Tetraden waren (Fig. 61).

Während der Bildung der generativen Zelle schwindet das Periplasmodium. Die Pollenkörner haben jetzt schon ihre definitive Grösse erreicht — ihr Diameter ist jetzt ungefähr 21 µ. Die grossen Stärkekörner bilden die Speichersubstanz (Fig. 62).

Die anfänglich kugelige generative Zelle wird allmählig ellipsoidisch oder spindelförmig und teilt sich wie bei anderen *Helobiae* schon dann, wenn die Pollenkörner noch in der Pollenkammer liegen. Während der Teilung liegt der vegetative Kern neben der sich teilenden Zelle. Gleichzeitig unterliegt er beträchtlicher Degeneration: seine Gestalt wird immer unregelmässiger und sein Gehalt körniger (Fig. 62—64).

Die reifen, mit Intina und Exina ausgestattenen dreikernigen Pollenkörner bleiben kurze Zeit in der Pollenkammer. Beide generativen Zellen sind miteinander verbunden (Fig. 65).

Die haploide Zahl der Chromosomen ist bei *Potamogeton perfoliatus* L. wahrscheinlich 24.

In bestimmten Stadien der Pollenentwicklung, und zwar während der zweiten allotypen Teilung und im Stadium der dreikernigen Pollenkörner, tritt oft eine Degeneration der Pollenkammer auf, die sich in Verunstaltung der Pollenkornwände, starker Absorption der Farbstoffe durch das Zytoplasma und in Veränderungen der Kernstruktur ausdrückt.

Pracę niniejszą wykonałam w Zakładzie Botaniki Ogólnej Uniwersytetu Warszawskiego. Czuję się w obowiązku złożyć wyrazy szczerej wdzięczności p. prof. Wóycickiemu za pomoc i wskazówki w toku mej pracy.

Wykaz literatury.

Campbell, D. H. 1897. A morphological study of *Najas* and *Zannichellia*. Proc. Cal. Acad. of Sc. Ser. III. Bot., 1.

Grönland, 1851. Beiträge zur Kenntniss der *Zostera marina*. Bot. Zeit., 9.

Hofmeister, W. 1852. Zur Entwicklungsgeschichte der *Zostera*. Bot. Ztg.

— 1861. Neue Beiträge zur Erkenntnis der Embryobildung der *Phanerogamen*. II. *Monocotyledonen*. Abh. Sächs. Ges. d. Wiss., 7.

Holferty, G. M. 1901. Ovule and embryo of *Potamogeton natans*. Bot. Gaz., 31.

Murbeck, Sv. 1902. Über die Embryologie von *Ruppia rostellata* Koch. Kungl. Svenska Vet. Akad. Handl., 36.

Rosenberg, O. 1901. Über die Embryologie von *Zostera marina* L. Bih. Svenska Vet. Akad. Handl., 27.

— 1904. Über die Individualität der Chromosomen in Pflanzenreich. Flora, 93.

Schürhoff, P. 1926. Die Zytologie der Blütenpflanzen.

Tischler, G. 1915. Die Periplasmodiumbildung in den Antheren der *Commelinaceen* und Ausblick auf das Verhalten der Tapetenzellen bei den übrigen *Monocotylen*. Jahrb. f. wiss. Bot., 55.

Wiegand, K. M. 1898. Notes on the Embryology of *Potamogeton*. Bot. Gaz. 25.

— 1899. The development of the microsporangium and microspores in *Convallaria and Potamogeton*. Bot. Gaz., 28.

— 1900. The development of the embryosac in some monocotyledonous plants. Bot. Gaz., 30.

Betula nana L. in the district of Święciany (Northeastern Poland).

By

A. WODZICZKO and B. PUSTOŁA.

The places in which *Betula nana* grows in the Middle of Europe have lately given rise to greater scientific interest, for this arctic-boreal element has been found in the fossil rather than in the living state. This species is a characteristic element of the so called „Dryas-Flora" which, as arctic tundra, used to cover considerable areas of Middle Europe right after the retreat of the last glacial age. The proofs of this may be found in different parts of Poland not only in the fossil leaves and seeds of *Betula nana*, but also in the latest results of pollen analyses, which confirm the existance of *Betula nana*-pollen in the deepest deposits of peat-bogs (2, 4, 5).

Recently there have been known to botanists in Poland two fixed places of growth of *Betula nana*, the first in „Linje", district of Chełmno (Pomerania), discovered by Nowicki in 1837, rediscovered by H. Conwentz in 1901 (1); the second on the peat-bog „Jelnia", near the town of Dzisna, near the river Dźwina (Wilno-country), described by E. Ralski in 1928 (3).

The next places of growth of this species discovered in 1931, are situated in the district of Święciany (Wilno-country), about which a short preliminary sketch has been given in „Ochrona Przyrody", Annual 11 (6).

Fig. 66 shows the geographical location of two different habitats of *Betula nana*.

The first habitat is situated on the moss „Ole", 4 *km* from the railroad station Rozłogi (main track of Święciany-Łyntupy-Królewszczyzna) in the forest district Mile, state forestry Łyntupy; the other one is situated on the moss „Pustelnia", com-

munity Komaje (private property of Mr. E. Czechowicz), at a distance of 15 *km* from the railroad station Łyntupy.

The moss Ole, in the third subdivision of the forest district Mile, has an elongated shape, and a surface area of 300 *ha*; it runs from the Northwest to the Southeast. To the North and West it is bordered by a hilly formation of diluvial loam containing a large amount of erratic stones (boulders). These fertile hills are at present under prospective farm cultivation; the South and Southeast areas are covered up by marshy meadows with trees scattered round on them as, birch *(Betula pubescens)*, alder *(Alnus glutinosa)* and com-

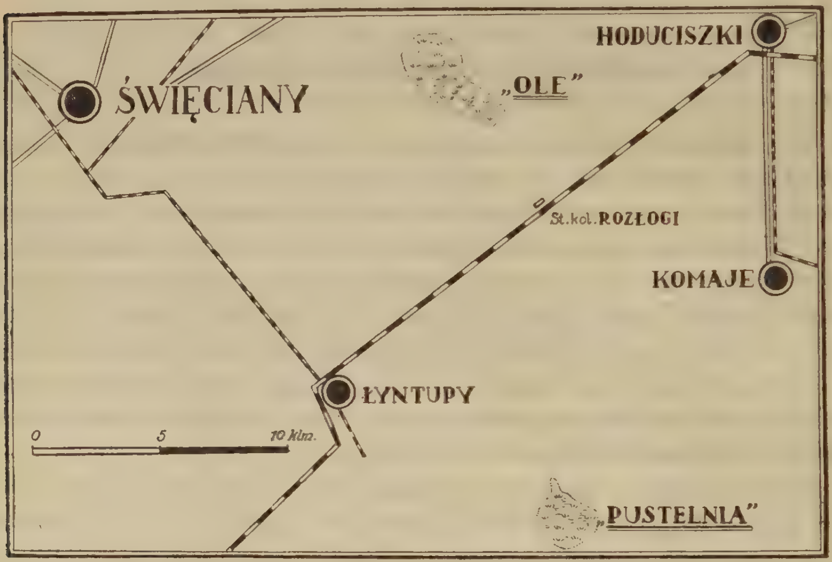


Fig. 67. Plan showing growing spots of *Betula nana*, district of Swięciany.

mon pine *(Pinus silvestris)*. In the close neighbourhood of this moss, in certain places only, there is a forest composed of fir, pine, and, in a still smaller number of aspen, birch and some other kind of trees of secondary importance. Along the borderline of the third and eleventh subdivisions of this forest district a stream „Komajka" has its beginning, and runs in the Southeast direction to the lake Mieguny, a distance of 8 *km*.

The moss Ole belongs to the so called „upland mosses" (oligotrophic acid peats or, highmoors), composed mostly of different bog mosses *(Sphagnum)*. The spreading cover of mosses is interwoven with lichens *(Cladonia)* and with a few other typical moss plants, e. g.

Eriophorum vaginatum, *Empetrum nigrum* and *Ericaceae* as, *Calluna vulgaris*, *Vaccinium oxycoccos*, *Vacc. uliginosum*, *Andromeda polifolia*, *Andr. calyculata*, *Ledum palustre*. On the moss are dispersed trees in certain places only e. g., some dwarfish shaped pines *(Pinus silvestris* f. *turfosa)* not more than $2^1/_2$ *m* high and some birches *(Betula pubescens)* below the natural height. On the boundary limits of this moss may be found also *Betula verrucosa*, *Alnus glutinosa*, *Salix caprea*, *S. cinerea*, *Viburnum Opulus*, *Rhamnus cathartica*. On the West side of this moss, between the third and eleventh subdivisions of the state forest district, there is a hill, a private property owned by farmers of the village Zwirki. East from this hill, a distance of 80 *m*, by the road, used only during winter when the moss is frozen, is the before named habitat of *Betula nana* on a surface not larger than 0·5 *ha*. Its favoured habitats are the slight elevations under the dwarfish shaped pines.

Its association on that specific ground area has been determined and is in accordance with the following list:

Sphagnum medium	*Eriophorum vaginatum*
Sph. acutifolium	*Empetrum nigrum*
Sph. fuscum var. *fuscescens*	*Vaccinium oxycoccos*
Sph. Warnstorfii var. *virescens*	*Vacc. microcarpum*
Sph. recurvum	*Vacc. uliginosum*
Sph. fallax	*Andromeda polifolia*
Sph. rubellum	*Andr. calyculata*
Polytrichum strictum	*Ledum palustre*
Hylocomium Schreberi	*Pinus silvestris* f. *turfosa*
Dicranum Bonjeani	*Salix myrtilloides*
Cladonia sp.	*Betula pubescens*

The plant societies existing on this moss and the pollen analyses of the peat deposits will be treated in a special study which is in preparation.

Moreover attention should be paid to the fauna of this moss, especially to a few boreal species existing in that part of Poland only. On this moss the mountain hare is more frequently found than the common hare. Also willow grouse lives here *(Lagopus lagopus)* in a number amounting from 40 to 50 brace.

Undoubtedly the prevailing primitive conditions of this moss together with its peculiar natural beauty, unusual vegetation and rare animals, fully entitle it to be kept as a preservation, the more so as, its soil is of no great value for farming purposes.

Now we are coming to the second place of growth of *Betula nana*, located 20 *km* South from the place described previously, in the forest area of „Pustelnia", near the village K o m a j e. This moss has a surface area of 100 *ha*; it has a free and loose distribution of pines *(Pinus silvestris)* with a few birch trees *(Betula pubescens)* in between. Here the pine trees have the average height of 7 *m* and sometimes they reach the height of 15 *m*. Round this moss the diluvial sandy hills are chiefly covered with pine and fir trees in a more or less diminutive number, and also, with alder trees, here and there.

As to the vegetation of this moss, there is not much difference to that described previously. The moss is also an acid peat (highmoor) but not so extremely oligotrophic; here we find also marshy willows as, *Salix pentandra, S. aurita, S. cinerea.*

Here *Betula nana* has quite a few distinct growing areas, the surface of which do not exceed 1 *ha*. In comparison with the other *Betula nana* described previously on the moss O l e this one has the decided tendency to grow smaller in height, its leaf-blades are slightly smaller, and, characteristic for the latter is, that they keep their leaves until the frosty weather makes them fall down.

The plants growing here with *Betula nana* are specified in the following list:

Sphagnum recurvum	*Ledum palustre*
Polytrichum strictum	*Comarum palustre*
Hylocomium Schreberi	*Salix aurita*
Vaccinium oxycoccos	*S. pentandra*
Vacc. uliginosum	*Betula pubescens*
Andromeda polifolia	*Pinus silvestris turfosa*

The fauna of this moss though not large in number is of the greatest interest, both to the naturalist and the hunter. Here occasionally we can see the elk; here all the year round in a small number the common lynx is living in the undergrowth; here comes the wolf living alone in summer but in flocks in winter. Other rare species of mammals found here are: the common otter *(Lutra vulgaris)*, the mountain hare *(Lepus variabilis)*, the *Mustela lutreola*; among the birds are: the capercailly *(Tetrao urogallus)*, the willow grouse *(Lagopus lagopus)*, the black grouse *(Tetrao tetrix)*, the common crane *(Grus cinerea)*, the black stork *(Ciconia nigra)*, the raven *(Corvus corax)*, and many others.

The above mentioned habitats of *Betula nana* have great similarity with the already known to botanists in L i n j e (Pomerania)

and in Jelnia (on the Dżwina-river). In every case known to us *Betula nana* is found on „upland mosses" (highmoors) with similar associations, however never without the glacial willow *(Salix myrtilloides)*.

We declare that *Betula nana* on these specified outposts is a relic of the diluvial Arctic period, however we must say that the thorough paleontological and pollen-analytical proofs were undertaken at Linje only.

We assume in our argumentation that the peat deposits rest on the lake deposits, therefore primarily our *Betula nana* chose its growing place on the elevated banks of the lakes. In time these banks have been covered up by woods and the lakes were changed into mosses, *Betula nana*, from the mineral salts on the banks, have shifted its position to the cold and damp grounds of the peats.

Disregarding the coming climatic changes our *Betula nana* survived on these grounds all obstacles and remained there to our days as a living relic of the glacial period.

We express herewith our thanks to Dr J. Mondelska (Leszno) for the determination of the mosses and to Mr. J. A. Nowak (Poznań) for his help with the translation of this paper.

Poznań, December 1931.

Literature.

1. Conwentz, H. *Betula nana* lebend in Westpreussen. Natur, Jg. 50, Halle 1901.

2. Paszewski, A. Pollenanalytische Untersuchung einiger Moore in Nordwest-Polen. Acta Soc. Bot. Pol., Vol. V, Nr. 4, 1928.

3. Ralski, E. Nowe stanowisko brzozy karłowatej w Polsce. (Ein neuer Standort von *Betula nana* L. in Polen). Acta Soc. Bot. Pol., Vol. V, Nr. 2, 1928.

4. Szaferowa-Jentys, J. La structure des membranes du pollen de *Corylus*, de *Myrica* et des espèces européennes de *Betula* et leur détermination à l'état fossile. Bull. de l'Acad. Polon., Cracovie 1928.

5. Thomaschewski, M. Pollenanalytische Untersuchung des Torfmoores Kalmusen in Pomerellen. Bull. de l'Acad. Polon., Cracovie 1929.

6. Wodziczko, A. i Pustoła, B. Stanowiska brzozy karłowatej *(Betula nana* L.) w powiecie święciańskim. (Wiad. tymcz.). Ochrona Przyrody, Roczn. XI.

Krystaliczny związek miedziowy glutationu.
(A crystallized coppercompound of the glutathion of yeast).

Napisał

ANTONI KOZŁOWSKI.

Preparaty krystalicznego glutationu uwodornionego są zwykle mniej lub więcej zanieczyszczone produktami jego rozkładu; glutation zaś utleniony nie dał się dotychczas przeprowadzić w stan krystaliczny. Związki metalowe glutationu, jak np. rtęci, ołowiu lub miedzi, znane są tylko w stanie bezpostaciowym. Wobec tego odczuwać się daje brak najważniejszego sprawdzianu chemicznej czystości owej substancji, tembardziej, że analizy rozmaitych próbek glutationu wykazują pewną rozbieżność w procentowym składzie pierwiastków.

Poniżej podany sposób sporządzenia związku krystalicznego da pewną rękojmię chemicznej jednolitości owej substancji. Zaznaczyć jednak tu należy, że także cystyna daje w podobnych warunkach związek miedziowy, który jednak różni się postacią kryształów i trudniejszą rozpuszczalnością.

Przebieg pracy:

1%-owy roztwór glutationu uwodornionego zobojętniono ostrożnie kwaśnym węglanem potasu ($KHCO_3$), zadano jedną kroplą 0·1%-ego roztworu siarczanu żelazawego ($FeSO_4$) i mieszano prądem powietrza aż do zupełnego odwodornienia cysteiny. Następnie płyn zakwaszono kwasem octowym i zadano niedużą ilością 3%-ego siarczanu miedzi; powstał natychmiast, nieliczny zresztą osad, który zawierał obok kryształów także nieco substancji bezpostaciowej; ten odfiltrowano niezwłocznie. Z filtratu wyłoniły się w ciągu 5—10 minut drobne igiełki pojedyńcze lub zebrane w pęki i rozetki. Po upływie jednej godziny osad odfiltrowano i przepłukano wodą.

Sól owa jest nierozpuszczalna w wodzie, zato bardzo łatwo w rozcieńczonych kwasach mineralnych i w roztworach kwaśnych

siarczanów. Zawiesina wodna owej substancji zadawana po kropli 0·6%-owym kwasem siarkowym lub 5%-owym roztworem kwaśnego siarczanu potasu ($KHSO_4$) daje roztwór klarowny, niebieskawo zabarwiony, z którego za dodaniem nieco 5%-ego roztworu octanu sodu, wypada z powrotem krystaliczny glutation miedzi. Związek ów rozpuszcza się także w ciepłym 20—30% kwasie octowym; podczas zagęszczania takiego roztworu w próżni przy temperaturze pokojowej wydzielają się najpierw długie igiełki, a przy końcu bezpostaciowe ziarenka. Krystaliczny glutation miedzi, w powyższy sposób otrzymany, różni się od bezpostaciowego związku, sporządzonego przy pomocy tlenku miedziawego, nietylko rozpuszczalnością, lecz także niższą zawartością miedzi.

Summary.

Reduced glutathion was dissolved in water, neutralized with potassiumbicarbonate, aerated, acidified with acetic acid, and precipitated with coppersulfate.

Uwagi o kilku krytycznych turzycach polskich.

(Rémarques critiques sur quelques *Carex* polonais).

Napisała

S. CHRYSTOFORA SZARSKA.

1. *Carex nemorosa* Rebent. w Polsce.

Carex nemorosa wydzielaną była dotąd przez florystów w ramach gatunku *Carex vulpina* L. jako forma o małej wartości systematycznej, ponieważ wyróżniano ją na podstawie cech nieistotnych [1]). Stan ten trwał do najnowszych czasów, mimo że już C. Hausknecht [2]) uznawał *C. nemorosa* za osobny gatunek, a w r. 1916 potwierdziły jego zdanie badania Lindberga [3]).

Zarówno sprawą systematycznej wartości *C. nemorosa* i jej stosunkiem do *C. vulpina*, jak i rozmieszczeniem geograficznem obu tych turzyc, zajął się ostatnio Samuelsson [4]). Co do rozmieszczenia *C. vulpina*, widział on ją ze Syberji i z całej Europy, a więc i z Polski; *C. nemorosa* wykazuje rozmieszczenie bardziej zachodnie i śródziemnomorskie. Samuelsson, na podstawie zbadanych przez siebie zielników [5]), stwierdził brak jej w Polsce, Rosji właściwej, Rumunji i krajach nadbałtyckich. Wskazywałoby to, że przez Polskę biegnie granica wschodnia jej zasiągu. Mimo uwagi Samuelssona o braku

---

[1]) Cfr. Kükenthal: *Cyperales-Caricoideae*, 1909, str. 168. *C. vulpina* L. *f. nemorosa* (Rebent.) Koch; Ascherson-Graebner: Synopsis der mitteleur. Flora, 1904, t. II, str. 36; Zapałowicz: Krytyczny przegląd roślinności Galicji, t. I., 1906, str. 89 i t. d.

[2]) Österr. Botan. Zeitschrift, 1877 r.

[3]) Schedae operis quod inscribitur Plantae Finlandiae exsiccatae. Helsingfors, 1916. Nr. 509 i 510.

[4]) Vierteljahrschrift der Naturforschenden Gesellschaft in Zürich. LXVII, 1922.

[5]) Samuelsson zbadał zbiory muzeów w Lund, Stockholmie, Upsali, Gothenburgu, Christjanji, Bergen, Kopenhadze, Berlinie, Wiedniu, Zurychu, Bernie i Bazylei.

C. nemorosa w Polsce należało się spodziewać, że dokładniejsze zbadanie zielników krajowych pozwoli odnaleźć u nas jakieś stanowiska tej rośliny, zwłaszcza że już w Europie środkowej dalej na zachód jest ona o wiele częstszą niż *C. vulpina*.

Rzeczywiście, udało mi się odnaleźć *C. nemorosa* z kilku miejscowości w Polsce [1]), co świadczy, że występuje ona u nas rzadko wprawdzie, ale rozrzucona w różnych okolicach. Uderza brak jej we wsch. Małopolsce (wyjąwszy stanowisko karpackie z Krasnego Łuku), mimo że zbiory turzyc są najbogatsze z tamtych właśnie stron [2]). Zgadzałoby się to poniekąd ze zdaniem Samuelssona o wschodniej granicy *C. nemorosa*.

Już na pierwszy rzut oka dość łatwo odróżnić *C. nemorosa* od *C. vulpina*. *C. nemorosa* ma liście szaro-zielone [3]), łodygę cieńszą, kłos bardziej luźny o barwie jaśniejszej i dłuższych szczeciniastych podsadkach [4]), zwykle też nerwacja pęcherzyka, zwłaszcza od strony brzusznej, występuje tu wyraźniej.

W razie wątpliwości, cechą pozwalającą rozdzielić bez reszty (wyjąwszy, naturalnie, zbyt młode okazy) *C. vulpina* od *C. nemorosa*, jest struktura błony pęcherzyka. Komórki u *C. nemorosa* mają kształt wydłużony w kierunku długości pęcherzyka i ściany cienkie, pęcherzyk wygląda tu błyszcząco. U *C. vulpina* natomiast komórki są kształtu izodiametrycznego, o grubszych ścianach i uwypuklonej kutikuli, co nadaje pęcherzykowi przy oglądaniu gołem okiem wygląd matowy, pod lupą wyraźnie brodawkowany; przytem u *C. vulpina* brzeg pęcherzyka jest silniej ząbkowany, niż u *C. nemorosa*, a nerwy dochodzą na stronie grzbietowej aż do dzióbka, który jest tu głębiej rozcięty. Do tych cech anatomicznych dołącza się zwykle barwa zielonawa pęcherzyka u *C. nemorosa*, brunatna u *C. vulpina*.

Spis stanowisk *C. nemorosa* w Polsce [5]).

1) Krasny Łuk w Karpatach Pokucko-Marmaroskich. Zapałowicz, 1880. (Podane w przeglądzie kryt. flory Galicji).

2) Chełmiec niemiecki. Sądeczyzna. B. Pawłowski, 1918.

---

[1]) Por. wykaz stanowisk niżej.

[2]) Zielnik Śleńdzińskiego i zbiory Lenza.

[3]) Określenie to odnosi się do liści suchych — zieleń liści żywych jest jednaka u obu turzyc.

[4]) Podsadki takie trafiają się niekiedy i u *C. vulpina*.

[5]) Na podstawie zielników Ogrodu Botan. Uniwers. warszawskiego, Ogrodu Botan. Uniwers. krakowskiego, zielnika Akademji Umiejętności oraz zielnika prywatnego p. doc. Zabłockiego.

3) Malinowiszcze koło Starzawy. Kotula, 1880. (Podane w Przeglądzie kryt. flory Galicji[1]).
4) Krosno, zb. Łukasiewicz, 1913.
5) Łagiewniki pod Krakowem. Zabłocki, 1925.
6) Starorypin koło Rypina, zb. Ejsmond, ozn. Zalewski, 1885.
7) Ciechocin-Mileszewo, ziemia Dobrzyńska. Zalewski.
8) Birsztany, pow. trocki. Łapczyński, 1885.

2. Nowe stanowisko *Carex pediformis* C. A. Mey w Polsce.

Carex pediformis C. A. Mey, syberyjski, stepowo-leśny element, w Polsce występuje bardzo rzadko: dotąd znane były jedynie stanowiska ze Lwowa i Sandomierza, a w r. 1922 E. Panow znalazł nowe jej stanowisko w Grodzisku pod Ojcowem, tuż pod *Prunus fruticosa*; liczniejsze okazy zebrał stamtąd w r. 1929 doc. B. Pawłowski.

W gatunku tym uderza ogromna zmienność morfologiczna. Już Kükenthal[2]) wyróżnia obok właściwej *C. pediformis* jeszcze *var. macroura* (Meinsh.) Kük. i *var. rhizina* (Blytt.) Kük. z formą *leopolitana* Kük. (ze Lwowa). W ostatnich czasach opracował szczegółowo tę turzycę Podpěra, wyróżniając kilka odmian i szereg form[3]). Okazy lwowskie należą wedle niego do *var. Andrejewi* Podp.; cechuje je kłącze gęste, darniste, łodyga koło 25 *cm* wysoka, liście o szerokości 1·8—2 *mm*, szczytowy kłosek ♂ przewyższający znacznie ostatni kłosek ♀.

Prócz Polski występuje *var. Andrejewi* w paru miejscowościach Finlandji, we wschodniej Rosji i w Syberji.

Co do okazów polskich, trzeba zaznaczyć, że odbiegają one często od diagnozy Podpěry[4]) zarówno w długości łodygi, dochodzącej do 40 *cm*, jak w szerokości liści (bywają do 2·5 *mm* szerokie), nieraz też ustawienie kłosków odpowiada *var. rhizina*, gdzie ostatni kłosek ♀ przewyższa kłosek szczytowy ♂[5]).

---

[1]) *C. nemorosa* z Piadyk w pow. kołomyjskim i z Gliwic na Śląsku, podane tamże przez Zapałowicza, okazały się *C. vulpina*.

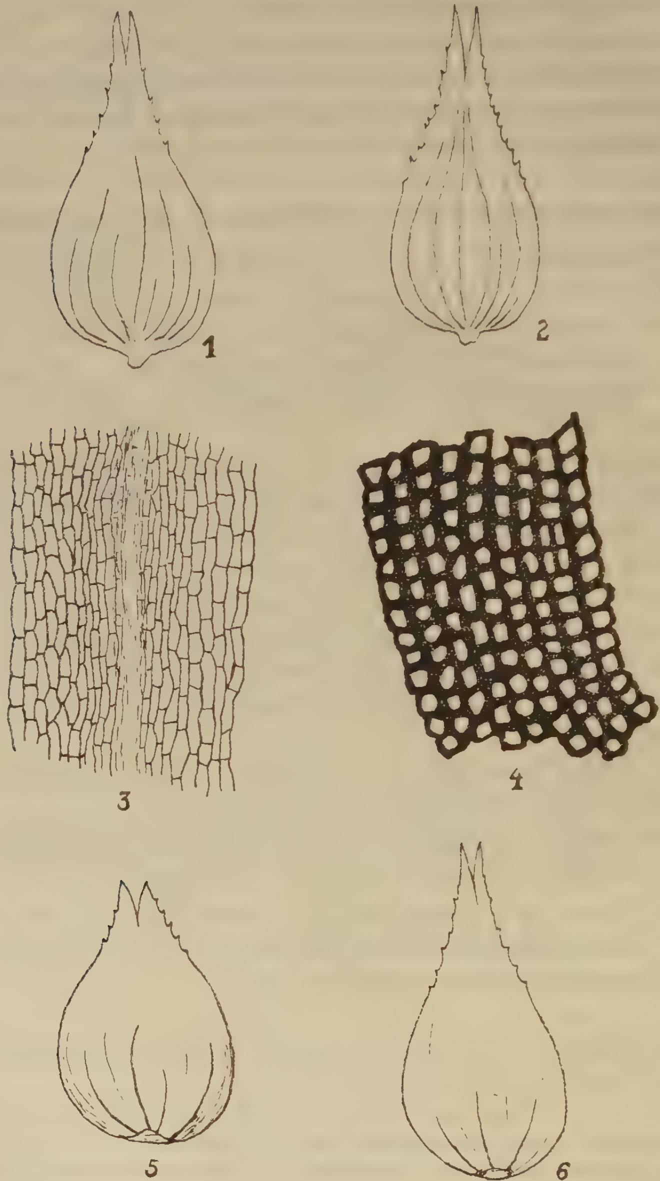
[2]) Kükenthal: Cyperales-Caricoideae, 1909 r., str. 490.

[3]) Podpěra: Quod momentum significet *Carex pediformis* in stepposis silvaticis Europae mediae. Spisy vyd. Přírodověckoů Fakultoů Masarykovy Univers. Brno, 1928, V, č. 101.

[4]) Zdaje mi się, że wogóle, z powodu zaznaczonej już wielkiej zmienności morfologicznej, trudno nieraz uznać ścisłą zgodność diagnoz Podpěry z rzeczywistością.

[5]) Porówn. Raciborski-Szafer: Flora polska, str. 208.

O ile chodzi o *C. pediformis* z Ojcowa, zdaje mi się, że nie można jej będzie zaliczyć do żadnej z wyróżnionych przez Podpěrę



Ryc. 68.

form — stanowi ona raczej coś pośredniego między *var. rhizina* Kükenth. a *var. Andrejewi* Podp. Charakteryzuje je kłącze gęste,

darniste, łodyga koło 25 *cm* wysoka, wiotka, szorstka, liście 1·2—2 *mm* szerokie; ustawienie kłosków odpowiada naogół *var. rhizina*, nieraz jednak kłosek ♂ wykazuje tendencję do wydłużania szypułki i przewyższania ostatniego kłoska ♀; u kilku okazów ustawienie kłosków odpowiada *C. pediformis 1. eupediformis* Podp. (kilka kłosków górnych ♀ osadzonych prawie razem).

Węższe liście, niższa łodyga, gęsty korzeń różnią okazy ojcowskie od *var. rhizina*, węższe liście, wiotka łodyga, ustawienie kłosków — od *var. Andrejewi*. Wiotkość łodygi, niekiedy ustawienie kłosków i wąskość liści zbliżają naszą turzycę do *var. obliqua* Turcz.[1]).

Co do *C. pediformis* z pod Sandomierza, Podpěra zdaje się, nie widział jej; wogóle w literaturze obcej ani polskiej nie znalazłam bliższych wiadomości prócz wzmianki, że podał ją Piotrowski[2]).

3. *Carex contigua* Hoppe i *Carex echinata* Murr.

Carex contigua Hoppe i *Carex echinata* Murr. (= *C. Pairaei* F. Schultz), uważane przez część florystów za odrębne gatunki[3]), przez innych tylko za podgatunki[4]), stanowią formy dość krytyczne. Jakkolwiek bowiem okazy typowe łatwe są do rozróżnienia, między typowemi istnieje szereg form przejściowych, które bez badań *in loco* trudno uznać za mieszańce. Przytem jedna z cech, podawana dotąd jako istotna w rozróżnieniu obu tych turzyc, nie wytrzymuje krytyki: mianowicie vagina podawana jest dla *C. contigua* wyciągnięta w języczek, płasko ucięta dla *C. echinata*. Na przejrzanych przeze mnie okazach różnica ta nie dała się stwierdzić: vagina u obu turzyc uciętą była płasko, przyczem zarówno u *C. contigua* jak u *C. echinata* zdarzały się czasem pochwy wyciągnięte w języczek[5]).

W formach typowych *C. contigua* odróżnia się od *C. echinata* innym kształtem pęcherzyka (por. Ryc. 68, fig. 5 i 6), przytem pęcherzyk jest tu większy (4—5 *mm*), zielony, o przysadkach długich, często szczeciniasto zakończonych; również wyższa łodyga (2—6 *dm*) i ligula dłuższa niż szeroka są pomocne dla odróżnienia.

C. echinata cechuje pęcherzyk okrągławy, z krótkim dzióbkiem, 3—4 *mm* wielkości, barwy czarnej, o przysadkach sięgających mniej

---

[1]) *var. obliqua* Turcz. ma ustawienie kłosków podobne do *eupediformis*, liście o maksymalnej szerokości 1·2 *mm*.

[2]) Ascherson-Graebner: Synopsis der mitteleur. Flora. 1904.

[3]) Cfr. Kükenthal op. cit. str. 154, 160. Flora polska, str. 188, 189 itd.

[4]) Cfr. Ascherson-Graebner t. II, 2, str. 38, sp. *C. muricata* sbsp. *C. Pairaei* i *C. Leersii*.

[5]) Schinz-Keller: Flora der Schweiz t. I, str. 87, sp. *C. muricata* L. (*C. contigua* Hoppe) sbsp. *Pairaei* (F. Schultz) A. u. G. (*C. echinata* Murr.).

więcej do połowy pęcherzyka, łodyga 2—4·5 *dm* wysoka, ligula szersza niż długa. W budowie anatomicznej liści niema różnicy między obu turzycami [1]), natomiast spód pęcherzyka posiada nieco gąbczastej tkanki u *C. contigua*, podczas gdy u *C. echinata* cały pęcherzyk aż do spodu wypełniony jest orzeszkiem.

Co do form przejściowych, występują one obficiej tam, gdzie więcej jest typowej *C. echinata* [2]). Cechy przejściowe zaznaczają się w wielkości, kształcie i barwie pęcherzyka, w wielkości i kształcie przysadek, w wysokości łodygi — w kształcie liguli trudno jest wyśledzić ciągły szereg przejść, mają tu one raczej charakter skokowy.

Mimo tych trudności przy rozróżnianiu *C. contigua* od *C. echinata*, zdaje mi się niesłusznem i na powierzchownej obserwacji opartem zdaniu P. Ilek'a [3]), który uważa te turzyce jedynie za varietates. Czy nie możnaby form typowych uznać śmiało za subspecies?

Co do *C. Leersii*, podawanej bądź jako osobny gatunek [4]), bądź jako odmiana gatunku *C. echinata*, chcę zaznaczyć, że liście dochodzą tu do 5 *mm* szerokości (Kükenthal i inni podają 3—4 *mm*), ligula bywa zwykle szersza niż długa; pęcherzyk dochodzący do wielkości 6 *mm*, miewa kształt rozmaity, właściwy bądź dla *C. contigua*, bądź dla *C. echinata*; zdaje mi się, że nie pozwala to nadawać *C. Leersii* jakiejś większej wartości systematycznej.

Z Instytutu Botanicznego Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

Objaśnienia do ryciny 68.

1) Pęcherzyk *Carex nemorosa* Rebent.
2) „ *Carex vulpina* L.
3) Skulptura błony *Carex nemorosa* Rebent.
4) Skulptura błony *Carex vulpina* L.
5) Pęcherzyk *Carex echinata* Murr.
6) „ *Carex contigua* Hoppe.

Résumé.

Dans ses recherches, l'auteur a trouvé quelques exemplaires du *C. nemorosa* Rebent en Pologne, sur lesquels on constate bien les traits caractéristiques de cette espèce.

[1]) Cfr. Spinner: Anatomie foliaire des Carex suisses: „*C. contigua* est en tous points absolument identique à *C. Pairaei*". Tenże autor mówi dalej: „*C. Pairaei* n'est evidemment que *C. contigua* avec les variations superficielles".

[2]) *C. echinata*, podawana jako rozpowszechniona dla Polski, bynajmniej nie jest u nas częstą; częstszą jest we wsch. Małopolsce.

[3]) Cfr. Bogumil Ilek: Systematyczne znaczenie *C. contigua* Hoppe, *C. echinata* Murr. i *C. divulsa* Good. Veda Prirodni, zesz. 5—7, r. 1930.

En plus de celà il s'occupe du *C. pediformis* C. A. Mey, trouvé nouvellement à Ojców. Les exemplaires d'Ojców semblent être des formes intermédiaires entre *C. pediformis var. rhizina* Kükenth. et la *var. Andrejewi* Podp., ayant quelques ressemblances avec la *var. obliqua* Turcz. Il faut ajouter, que les différentes formes de ce Carex présentent une si grande variabilité individuelle, qu'il est souvent difficile d'accorder l'analyse de Podpěra avec la réalité.

Quant aux *C. contigua* Hoppe et *C. echinata* Murr., qui jusq'ici n'ont pas été exactement définis, leur distinction dans les formes typiques semble facile quand on prend en consideration la forme, la grandeur, la couleur de l'utricule, des écailles et la hauteur de la tige, mais non pas la forme variable de la vagine.

Les recherches ont permis de constater que le *C. echinata* est en Pologne beaucoup plus rare, qu'on ne l'avait pensé.

L'Institut botanique de l'Université Jagiellonienne à Cracovie.

Études climatologiques.

Par

DEZYDERY SZYMKIEWICZ.

XXI. Sur le bilan d'énergie chez les végétaux des montagnes.

Le bilan d'énergie chez les végétaux dépend surtout du rayonnement qui tombe sur eux et de celui qui est émis par eux. La part de la chaleur engendrée par la respiration y est minime. Ce bilan est surtout intéressant dans les montagnes, où les conditions du rayonnement sont très spéciales. Dans la présente étude, je m'occuperai de cette question, qui n'a pas encore été traitée à fond.

On doit tenir compte, dans cette étude, de toutes les sortes du rayonnement. Seul le rayonnement ultra-pénétrant peut être négligé à cause de son énergie très faible. Nous avons donc à faire ici avec trois sortes de rayonnement venant d'en haut: 1) rayonnement solaire direct, composé d'ondes courtes ($\lambda < 3\ \mu$); 2) rayonnement solaire diffus, composé également d'ondes courtes et 3) rayonnement propre de l'atmosphère, dit „nocturne", composé d'ondes longues ($\lambda > 5\ \mu$). Il s'y ajoute encore le rayonnement provenant du sol et des végétaux environnants. Pour fixer les idées, nous rapporterons notre raisonnement à une feuille placée horizontalement au niveau des sommets des végétaux et nous admettrons que le sol est couvert entièrement par la végétation. Ceci étant, la surface inférieure de la feuille sera soumise à l'action du rayonnement à ondes courtes réfléchi par la végétation environnante et du rayonnement à ondes longues émis par cette dernière aussi.

Enfin on aura à tenir compte du rayonnement émis par la feuille considérée, qui est composé d'ondes longues et qui provoque des pertes d'énergie.

Pour dégager plus clairement les particularités du bilan énergétique montagnard nous allons le comparer à celui des plaines. Or,

nous avons les mesures fort intéressantes de Senn[1]) se rapportant à cette question. L'éminent professeur de Bâle a comparé la température des plantes maintenues en plein soleil à Muottas-Muraigl (2450 *m*) et à Bâle (275 *m*). Il a trouvé que l'échauffement des feuilles des plantes montagnardes par rapport à la température de l'air était en moyenne le même que dans la plaine. Le même résultat ressort de la comparaison des mesures effectuées par Dorno[2]) également à Muottas Muraigl et par Clum[3]) à Ithaca dans la plaine de l'État de New York. Ce résultat paraît paradoxal, étant donné que le rayonnement du soleil est plus fort à de hautes altitudes qu'aux altitudes basses. Cependant il apparaît tout naturel, lorsqu'on tient compte non seulement du rayonnement du soleil, mais aussi d'autres sortes du rayonnement énumérées plus haut.

Tout d'abord on ne peut se contenter du rayonnement direct du soleil, comme on le fait le plus souvent. Il faut encore y ajouter le rayonnement diffus du ciel. Ce rayonnement s'affaiblissant avec l'altitude, la différence d'énergie du rayonnement entre les montagnes et la plaine diminue considérablement. On n'a que peu de mesures du rayonnement solaire diffus et total. Nous profiterons ici des données obtenues à l'Observatoire de Zugspitze et nous les comparerons à celles de l'Observatoire de Karlsruhe (voyez la table à la page 193).

Il s'ensuit de cette table que la différence du rayonnement total en plein saison de végétation, à midi des jours clairs de juillet, entre les montagnes et la plaine n'est que 0·182 *gr. cal* par minute et cm^2 de la surface horizontale, tandis que cette différence pour le rayonnement direct s'élève à 0·428.

Étant donné que l'albedo des végétaux, pour le rayonnement solaire, d'après les mesures de A. Angström[4]), est égal à 25%, on ne prendra de l'énergie de la radiation solaire totale que 75%. On aura donc, toujours pour midi des jours clairs de juillet, que l'énergie de cette sorte absorbée par la végétation s'élève dans les montagnes à 1·149 *gr. cal* et à 1·012 dans la plaine.

---

[1]) Strahlung und Blattemperatur. — Verhandl. Schweiz. Naturf. Ges. 1929. 149—150.

[2]) Grundzüge des Klimas von Muottas-Muraigl. — Braunschweig (1927) p. 115—122.

[3]) The effect of transpiration and environmental factors on leaf temperatures. — American Journal of Botany. Vol. XIII (1926) 194—230.

[4]) The albedo of various surfaces of ground. — Geografiska Annaler 1925. 323—342.

Table I.

Rayonnement solaire à midi (*gr. cal.* tombant par minute sur 1 cm^2 de la surface horizontale) par le temps clair

Zugspitze 2960 *m* (1. VIII 1926—31. VII. 1927).

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
Rayonnement diffus . .	0·068	0·055	0·058	0·092	0·090	0·101	0·104	0·106	0·096	0·134	0·076	0·077
„ direct . .	0·562	0·789	1·050	1·322	1·390	1·403	1·428	1·314	1·219	0·890	0·664	0·509
Rayonnement total . .	0·630	0·844	1·108	1·414	1·480	1·504	1·532	1·420	1·315	1·024	0·740	0·586

Karlsruhe 130 *m* (1927—1928).

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
Rayonnement diffus . .	0·23	0·18	0·16	0·30	0·36	0·36	0·35	0·32	0·24	0·31	0·29	0·25
„ direct . .	0·28	0·51	0·78	0·93	1·09	1·10	1·00	0·87	0·79	0·52	0·34	0·24
Rayonnement total . .	0·51	0·69	0·94	1·23	1·45	1·46	1·35	1·19	1·03	0·83	0·63	0·49

Lorsqu'on considère une feuille isolée, comme nous le faisons ici, il faut encore tenir compte de ce que la feuille laisse passer une fraction du rayonnement solaire sans l'absorber. On peut estimer cette fraction à 30% environ du rayonnement incident: telle est la valeur déterminée par Brown et Escombe pour *Helianthus annuus*. En appliquant cette correction, on aura l'énergie du rayonnement solaire, absorbée par la feuille, égale à 0·689 *gr.cal./min.cm*^{2} dans les montagnes et à 0·607 dans la plaine.

Il faut encore y ajouter l'énergie du rayonnement à longues ondes émis par l'atmosphère. Cette énergie, d'après les mesures de Falckenberg [1]), est absorbée par la végétation dans la proportion de 97%. Nous n'avons que très peu de mesures du rayonnement propre de l'atmosphère effectuées pendant le jour, mais on peut admettre que, pour le temps clair, l'énergie de cette sorte de rayonnement est sensiblement la même le jour et la nuit. Nous prendrons, par suite, les mesures nocturnes, en utilisant les données réunies par Dorno [2]), à savoir 0·2 pour les montagnes et 0·4 pour la plaine. Les végétaux en absorberont respectivement 0·194 et 0·388.

Il faut enfin tenir compte de l'énergie obtenue par notre feuille de la végétation environnante. On a ici le rayonnement solaire réfléchi qui a l'énergie égale à $^1/_4$ de l'intensité totale du rayonnement tombant d'en haut. La feuille en absorbera 45%, c'est-à dire 0·172 dans les montagnes et 0·152 dans la plaine. On aura en outre le rayonnement à ondes longues provenant de la végétation. Pour calculer son intensité, nous admettrons que la température des feuilles dans les montagnes soit 20° et dans la plaine 30°. Alors, en prenant la constante de la loi de Stefan égale à $8{\cdot}26 \times 10^{-11}$ *gr.cal./min.cm*^{2} et en tenant compte de l'albedo des feuilles pour le rayonnement à ondes longues, on aura l'énergie émise par la végétation dans les montagnes égale à 0·591 et dans la plaine à 0·675. Notre feuille en absorbera par sa surface inférieure dans les montagnes 0·573 et dans la plaine 0·655.

On aura en somme l'énergie absorbée par la feuille

dans les montagnes: $0{\cdot}689 + 0{\cdot}194 + 0{\cdot}172 + 0{\cdot}573 = 1{\cdot}628$
dans la plaine: $0{\cdot}607 + 0{\cdot}388 + 0{\cdot}152 + 0{\cdot}655 = 1{\cdot}802$

Passons maintenant à la part négative du bilan énergétique. Notre feuille perdra par suite de l'émission du rayonnement à longues ondes provenant de ses deux surfaces — dans les montagnes 1·182,

[1]) Absorptionskonstanten einiger meteorologisch wichtiger Körper für infrarote Wellen ($\lambda_{max.}$ etwa 10 µ). — Meteor. Zschr. Vol. 45 (1928). 334—337.

[2]) Physik der Sonnen- und Himmelsstrahlung. — Braunschweig (1919) p. 86.

dans la plaine 1·350. Par ces pertes, l'énergie du rayonnement gagnée par la feuille sera réduite à 0·446 dans les montagnes et à 0·452 dans la plaine.

En fin de compte on aura dans les montagnes, pendant le jour par le temps clair, le gain d'énergie du rayonnement sensiblement le même que dans la plaine. Il devient ainsi tout à fait naturel que l'échauffement des feuilles sous l'action du soleil est à peu près le même dans les montagnes et dans la plaine.

XXII. Comment caractériser le régime des vents?

Le vents constituent un facteur écologique puissant. Malheureusement, les données fournies pour ce facteur par la météorologie officielle sont en général incomparables. Ceci provient de ce que les observations sont effectuées à des hauteurs différentes, en endroits dont les abords sont encombrés de différentes manières d'arbres, de bâtiments etc. Ce ne sont que les observations effectuées dans le même endroit qui sont comparables entre elles. Même dans ce dernier cas, il arrive quelquefois que les observations avec le temps deviennent incomparables, car l'entourage de l'anémomètre peut changer. Ainsi à Berlin l'anémograph du lycée de Joachimsthal, installé en 1884, a accusé en 1902 l'affaiblissement du vent de 25% à cause de la construction de nombreux bâtiments dans ce quartier de la ville [1]).

Pour rendre comparables les observations de la vitesse du vent, effectuées à de différentes stations, j'ai imaginé un procédé très simple. Comme on le sait, la vitesse du vent au-dessus du terrain libre augmente régulièrement avec la hauteur. D'après les recherches de Hellmann [2]), la vitesse moyenne du vent croît proportionnellement à la puissance $^1/_4$ de la hauteur pour les niveaux inférieurs à 2 *m*, et à la puissance $^1/_5$ pour les niveaux supérieurs à 16 *m*. Or, l'encombrement de l'entourage de l'anémomètre par les édifices, les arbres etc. provoquant l'affaiblissement des vents, on peut considérer cette action comme équivalente à la diminution de la hauteur de l'anémomètre. Pour éliminer cette influence de l'entourage, il suffit de calculer la hauteur réduite de l'anémomètre, c'est-à-dire une hauteur à laquelle l'anémomètre aurait marqué la même vitesse des

---

[1]) Hellmann, G. Über die Bewegung der Luft in den untersten Schichten der Atmosphäre. — Sitzungsber. Akad. Berlin 1914, p. 416—417.

[2]) Über die Bewegung der Luft in den untersten Schichten der Atmosphäre. — Sitzungsber. Akad. Berlin. 1914. 415—437, 1917. 174—197, 1919. 404—416.

vents dans un endroit libre ayant les mêmes conditions climatériques.

Pour calculer la hauteur réduite de l'anémomètre donné, situé à une hauteur H au-dessus du sol (A sur la figure 68), plaçons pour un certain temps au-dessus de lui un autre anémomètre à un niveau $H+h$ (B sur la figure 68). En désignant par x la valeur cherchée de la hauteur réduite et par v_{H+h} et v_H les indications des deux anémomètres, on aura l'équation :

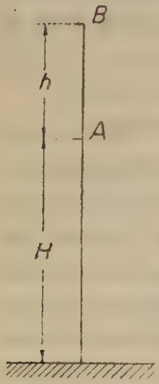


Fig. 69.

$$\frac{v_{H+h}}{v_H} = \left(\frac{x+h}{x}\right)^{\frac{1}{n}},$$

où n est égal à 5 ou à un nombre compris entre 5 et 4. La hauteur réduite de l'anémomètre peut être ainsi facilement calculée.

Ayant pour chaque anémomètre sa hauteur réduite, on peut ensuite ramener les valeurs de la vitesse du vent dans les différents endroits d'un territoire à un même niveau, parce qu'on peut maintenant considérer les anémomètres comme situés en terrain libre.

Laboratoire de Botanique de l'École Polytechnique de Lwów.

Badania nad mikroflorą mlek polskich.
(Recherches sur la microflore des laits polonais).

Napisała

MARJA BURBIANKA.

Z pośród licznych przemian, zachodzących w mleku pod wpływem działania bakteryj, jedną z najbardziej znanych jest fermentacja cukru mlecznego, przyczem powstały przy tem kwas mlekowy powoduje ścinanie się sernika, czyli t. zw. samorzutne zsiadanie się mleka.

Według najdawniejszych pojęć uważano, że proces ten odbywa się pod wpływem kazeiny, której nadawano własności enzymu. Dopiero Pasteur ustalił w r. 1857, że tym czynnikiem wywołującym fermentację jest pewien żywy organizm, który nazwał *„ferment lactique"*.

Pierwsze czyste kultury bakteryj kwasu mlekowego zostały wyodrębnione przez Lister'a (9) w roku 1878 i opisane pod nazwą *Bacterium lactis acidi*, jako podwójne, nieruchome małe pałeczki, nie tworzące spor, Gramdodatnie.

Dalej Hüppe (6) podaje opis wyizolowanej przez niego z kwaśnego mleka bakterji, która ścinała mleko w przeciągu 15 - 24 godzin z wytworzeniem gazu. Jest to nieruchliwa pałeczka $1-1{\cdot}7\,\mu \times 0{\cdot}3-0{\cdot}4\,\mu$, Gramujemna, nazwana przez Hüppe'go *Bact. acidi lactici.*

W roku 1885 Escherich (3) znalazł w przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt pewien gatunek wytwarzający kwas mlekowy. Opisane przez niego pod nazwą *Bacterium lactis aërogenes* bakterje, uważa jednak za identyczne z *Bacterium acidi lactici* Hüppe'go, pomimo znacznych różnic morfologicznych i fizjologicznych.

Dalsze badania w tym kierunku prowadzą Günther i Thierfelder (4), Grotenfelt (5), Leichmann (10), Weigmann (19) i cały szereg innych badaczy, którzy przeważnie opisują bakterje należące do jednego typu, nadając im jednakże różne nazwy.

Obecnie ustalił się pogląd, że głównym czynnikiem przy fermentacji cukru mlekowego w mleku są bakterje, które Löhnis (8) łączy pod nazwą *Streptococcus lactis Lister*, Beijerinck (1) pod nazwą *Lactococci*, a Weigmann (20) podaje pod zbiorową nazwą *Streptococcus lacticus*. Są to opisane przez Listera, Leichmanna, Günthera, Thierfeldera i innych bakterje, które występują w postaci pojedyńczych i podwójnych krótkich pałeczek, które się układają także i w łańcuszki; spor nie tworzą, są nieruchome, Gramdodatnie i powodują rozkład cukru mlecznego z wytworzeniem tylko prawoskrętnego kwasu mlekowego według wzoru

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = 4\,C_3H_6O_3$$

Drugą, podrzędniejszą rolę przy ścinaniu się mleka stanowią bakterje typu *Bacterium acidi lactici* Hüppe, które przy rozkładzie cukru wytwarzają oprócz kwasu mlekowego kwas octowy i inne poboczne produkty, jak ślady alkoholu etylowego, CO_2, H_2 i t. p., przyczem są Gramnegatywne.

Zadaniem tej pracy było zbadanie, czy bakterje, biorące główny udział w procesie ścinania się mlek polskich, są identyczne z opisywanemi dla mleka w środkowej, zachodniej i północnej Europie i oznaczenie ich cech.

Jako źródła dla izolowania tych ostatnich używane były mleko krowie i śmietana, których liczne próbki pobierano z różnych okolic Warszawy i innych miejscowości Polski w ciągu całego roku. Jako pożywki dla wyodrębniania bakteryj służyły żelatyna i agar na serwatce, otrzymanej ze świeżego odtłuszczonego mleka przez ścięcie sernika zapomocą podpuszczki. Do szalek z agarem i żelatyną dodawano $CaCO_3$ w celu łatwiejszego uwidocznienia kolonij, wytwarzających kwas. Wyodrębnione ze śmietany i kwaśnego mleka bakterje, były przeszczepiane na sterylizowane mleko i pod uwagę brano tylko te kultury, które ścinały je conajmniej w ciągu 5—7 dni w t^0 25^0.

W celu porównania wyizolowane szczepy były następnie przenoszone na następujące pożywki:

Agar na wodzie + 2% laktozy + 1% peptonu; żelatyna + 2% laktozy + 1% peptonu, marchew, kartofle, serwatka.

Do wyodrębniania bakteryj używane było mleko kwaśne 1-o, 2 u, 4-o, 6-cio dniowe, a także takie, które stało dłuższy czas, 7—14 dni. Przytem robione były badania nad takiem, które się ścięło w t^0 pokojowej, a również i w temperaturach 26^0, 30^0 i 35^0 C.

W t^0 35^0 występowały tylko bakterje typu *Aërogenes*, *Coli* i im pokrewne, które zwykle mleka w ciągu kilkunastu godzin nie ścinały.

W mleku zsiadłem w t^0 pokojowej, w 25^0 a poczęści i w 30^0 C, a także w śmietanie, występował tylko jeden typ bakteryj: Gram-dodatnie, pojedyńcze i podwójne pałeczki, układające się też i w łańcuszki, w których przybierają czasem postać więcej okrągłą.

Na żelatynie (szalka) tworzą małe białe kolonje, rozpuszczające $CaCO_3$. Pod mikroskopem kolonje te są żółte o brzegach równych, okrągłe, o równomiernej ziarnistości. Wzrost powolny. Na agarze kolonje głębiej położone — soczewkowate, powierzchniowe okrągłe. Na żelatynie wzrost równomierny wzdłuż nakłucia, na powierzchni lekki nalot. Na agarze skośnym wzrost słaby, po kilku dniach dopiero biała kolonja sucha, o brzegach równych. Na pożywkach z serwatką wzrost szybszy niż na podłożach bezserwatkowych. Na marchwi i kartoflach nie rosną. Mleko sterylizowane ścinają w t^0 25^0 w przeciągu 17—24 godzin, w postaci jednolitej galaretowatej masy. Nie tworzą gazu.

Opierając się na tem, że jedne typy występują glównie w postaci pojedyńczych i podwójnych pałeczek, inne łańcuszków, a inne jeszcze tworzą normalnie obok pojedyńczych i podwójnych pałeczek również łańcuszki, można było rozróżnić 3 szczepy, które oznaczymy Nr. I, II, III. Do późniejszych doświadczeń były użyte trzy typy szczepu I, Nr. I a wyizolowany z siadłego mleka, I b i I c ze śmietany; szczep Nr. II ze śmietany i dwa typy szczepu Nr. III, III a i III b z mleka.

Poniższa tabelka podaje rozmiary wyizolowanych szczepów, ponieważ różnią się one prawie wyłącznie rozmiarem od typów bakteryj mlecznych w literaturze opisywanych.

Rozmiar w μ żywych bakteryj, użytych do doświadczeń:

Nr. I a	I b	I c	II	III a	III b
1·25—1·65 × 0·80—1·25	1·25—1·65 × 0·80—1·25	1·25—1·65 × 0·80 1·25	1·85—2·10 × 0·80	1·00—1·45 × 0·80—1·25	1·25—1·65 × 0·80—1·25
pojedyńcze i podwójne			łańcuszki	pojedyńcze, podwójne i łańcuszki	

Wyodrębnione bakterje można zatem uważać za jedne z przedstawicieli typu *Streptococcus lactis* (Lister) Löhnis, inaczej *Bacterium lactis acidi* Leichmann, gdyż tak pod względem morfologicznym, jak zwłaszcza fizjologicznym, odpowiadają opisanym pod tą nazwą bakterjom. Różnica polega właściwie jedynie na wydłużonej

ich postaci, zbliżonej więcej do „Bacterium" niż do „Coccus", zwłaszcza w typie II.

Co do ilości wytwarzanego przez typowe bakterje kwasu mlekowego, dotychczasowe badania wykazały cyfry bardzo nieznaczne, gdyż już niewielka jego zawartość w pożywce wpływa hamująco na rozwój i własności fizjologiczne bakterji.

Timpe (17) w swych doświadczeniach z *Bacterium acidi lactici* Hüppe wykazał, że jeden i ten sam szczep zależnie od podłoża, na którem jest hodowany, wytwarza różne ilości kwasu. W obecności ciał neutralizujących, jak np. fosforanów i kazeiny, ilość kwasu w mleku dochodziła do 0·6%, podczas gdy na pożywce zawierającej 5% cukru i sól amonową, jako źródło azotu, nie przekraczała 0·04%.

Wyizolowany przez Schweitzera (14) z kwaśnego mleka gatunek, wytwarza w sterylizowanem mleku 0·585% kwasu mlekowego. Bakterje te identyfikuje Schweitzer z opisanym przez Günthera i Thierfeldera typem. Tymczasem Schierbeck (13) podaje 0·7% kwasu dla znalezionego w mleku *Bacterium Güntheri*. Według Rahn'a (12) 0·5% wpływa wyraźnie hamująco na dalszy rozwój *Bacterium lactis acidi*.

Według Dam'a (2) proces fermentacyjny zostaje wstrzymany, gdy koncentracja kwasu mlekowego dochodzi do 0·01 n. Co do ilości jonów wodorowych, które wpływają hamująco na dalszy rozwój bakteryj kw. mlekowego, według Dam'a liczba granicznego stężenia waha się w granicach 10 do 20×10^{-5}.

Svanberg (16) jako graniczną wartość Ph dla *Streptococcus lacticus* podaje Ph = 3·5. Dalszy wzrost bakteryj, według niego, przy tej wartości już nie może się odbywać.

Podobne cyfry podają Virtanen, Wichmann i Lindstroëm (18), którzy stwierdzili, że rozwój *Streptococcus lacticus* ustaje przy Ph = 4·1, podczas gdy zdolność do rozkładu cukru dopiero przy Ph = 2·9.

Knudsen i Sorenson (7) znaleźli, że jeden i ten sam szczep, zaszczepiony na mleku tego samego pochodzenia, wytwarzał 0·84% kwasu mlekowego, podczas gdy na mleku innego pochodzenia 0·66%. Ph w obu wypadkach wynosiło 4·3. Drugi szczep streptokokków mlecznych wykazywał jeszcze większe różnice, mianowicie 0·78% i 0·42% przy Ph = 4·5 i Ph = 4·6, czyli, że ilość kwasu jest zależna od składu mleka.

Makrinow (11) podaje dla *Bacterium lactis acidi* Leichmann 0·9% kwasu w mleku.

Własne doświadczenia.

Ilość wytwarzanego kwasu.

Z pośród wyodrębnionych z wszystkich badanych prób mleka bakteryj typu *B. lactis acidi* Leichmann użyto do bliższego poznania ich kwasotwórczości 6 szczepów.

Ilość wytwarzanego przez bakterje kwasu była obliczana na 3 rodzajach pożywek.

1) Na mineralnej o składzie 0·03% KH_2PO_4, 0·01% NaCl, 0·01% $MgSO_4$, 0·1% peptonu i 3·5% cukru mlecznego.

2) na serwatce, którą otrzymano przez ścięcie świeżego mleka zapomocą podpuszczki.

3) Na sterylizowanem mleku.

Do doświadczeń posługiwano się kolbami o pojemności 100 *cm*³, do których wlewano po 50 *cm*³ pożywki. Ilość kwasu mierzono zapomocą miareczkowania $^1/_{20}\,n$ NaOH przy użyciu fenolftaliny jako wskaźnika; przytem od ogólnej ilości *cm*³ NaOH, które zostały zużyte na zmiareczkowanie kwasu, odejmowano ilość *cm*³ NaOH, użytych na zmiareczkowanie pożywki w kolbce kontrolnej (niezaszczepionej). Tam, gdzie do pożywek był dodawany $CaCO_3$, jako środek neutralizujący, wytwarzający się kwas mlekowy określano w sposób następujący: Po ukończonej fermentacji na mleczan wapnia działano kwasem szczawiowym do kwaśnej reakcji

$$Ca(C_3H_5O_3)_2 + C_2H_2O_4 = 2\,C_3H_6O_3 + CaC_2O_4.$$

Na sączku pozostał nierozpuszczalny szczawian wapnia, a w roztworze kwas mlekowy i nadmiar kwasu szczawiowego. Celem usunięcia tego ostatniego, gotowano przesącz z $ZnCO_3$ do reakcji obojętnej i znowu sączono.

$$2\,C_3H_6O_3 + ZnCO_3 = Zn(C_3H_5O_3)_2 + H_2CO_3$$

rozpuszczalny na gorąco mleczan cynku — przechodził do roztworu, nadmiar $ZnCO_3$ i szczawian cynku pozostawały na sączku

$$C_2H_2O_4 + ZnCO_3 = ZnC_2O_4 + H_2CO_3.$$

Znajdujący się w roztworze mleczan cynku, po odparowaniu przesącza do małej objętości, wykrystalizował na zimno w postaci białego krystalicznego osadu. Po odsączeniu osad spalono i ilość kw. mlekowego obliczono z ilości ZnO.

Jednocześnie wykonywano określenia kontrolne, które właściwie miały znaczenie tylko przy serwatce, i znalezioną ilość kwasu mlekowego w kontrolnej serwatce odejmowano od ogólnej sumy.

I Doświadczenie.

Większą ilość kolbek z pożywką mineralną wzgl. z serwatką zaszczepiono jednocześnie jednakową ilością płynnej kultury (1 cm^3 kultury na 50 cm^3 pożywki). Jako materjał wyjściowy służyła płynna pożywka mineralna, do której przeniesiono oczko igły platynowej bakteryj z kultury żelatynowej i którą zostawiono przez 48 godzin w t^0 25^0. Zaszczepione kolbki z pożywką mineralną i serwatką wstawiono do termostatu o t^0 $25-27^0$. Najprzód codziennie, a potem co kilka dni brano po 2 kolbki dla określenia ilości kwasu zapomocą miareczkowania. Jednocześnie do kilku kolbek dodano $CaCO_3$, w których ilość kwasu obliczano dopiero po ukończonej fermentacji.

Tabela I przedstawia przebieg fermentacji na pożywce „mineralnej“ w doświadczeniu ze szczepem Nr I b. Przyrost kwasu na pożywce tej jest nierównomierny; w jednych kolbkach fermentacja jest ukończona już po 3 dniach, podczas gdy w innych po 10-ciu nie dobiegła do końca. Można to tłumaczyć tem, że na tej pożywce bakterje wogóle bardzo źle rosną, więc chociaż przy szczepieniu starano się wprowadzać jednakowe ilości bakteryj, mogło się jednak zdarzyć, że do jednej kolbki trafiło więcej żywych bakteryj, do innych mniej, tak, że dalszy rozwój odbywał się mniej więcej w ten sposób, jak to obserwowano przy zastosowaniu pożywek „mineralnych“ dla drożdży.

Na serwatce znacznie lepszy wzrost, już po 5 dniach osiągnięte jest maximum kwasu, poczem następuje spadek jego przez zużycie go. Ilość wytworzonego na serwatce kwasu jest zawsze większa niż na „mineralnej“ pożywce. O ile przyjmiemy dla Nr. I b ilość kwasu wytworzoną na pożywce mineralnej odpowiadającą 3·4 i 3·5 *cm* $^1/_{20}$ *n* NaOH, wyniesie to w gramach *0·0155* kwasu mlekowego, na serwatce zaś 22·5, 22·3, 22·2 *cm* $^1/_{20}$ *n* NaOH, co odpowiada *0·1003 gr* kwasu mlekowego, a zatem na serwatce 6—7 razy więcej.

Tabela II przedstawia przebieg fermentacji w doświadczeniu z szczepem Nr. III a. Szczep ten wykazuje wzrost na pożywce mineralnej bardziej równomierny; maximum osiągnięte po 2-ch dniach, na serwatce po 6 dniach. Przyjmując maksymalną ilość kwasu wytworzoną przez Nr. III a na pożywce mineralnej, odpowiadającą 5·8, 5·3 i 6·5 cm^3 $^1/_{20}$ *n* NaOH, i obliczając ze średniej odpowiadającą ilość kwasu mlekowego, otrzymamy *0·0264 gr.* Na serwatce natomiast 39·6 cm^3, 39·5 i 39·4 cm^3 $^1/_{20}$ *n* NaOH odpowiada *0·1777 gr* kwasu mlekowego. Szczep zatem ten (III a) wytwarza tak na „mineralnej“ pożywce, jak i na serwatce o mniej więcej 60% kwasu mlekowego, więcej niż poprzedni szczep (I b).

Tabela I.

Ilość cm^3 $^1/_{20}$ *n* NaOH zużytych do zmiareczkowania 50 cm^3 pożywki.
Szczep Nr. I b.

Ilość dni	Mineralna cm^3 NaOH		Serwatka cm^3 NaOH	
1	1·7 2·1	1·9	9·6 13·0	11·3
2	3·2 1·7	2·45	15·4 19·9	17·65
3	3·6 5·2	2·44		
4	1·7 2·5	2·1	21·6 20·2	20·9
5	3·7 1·7	2·7	22·5	22·5
7	2·5 2·0	2·25	22·3 22·2	22·25
12	5·3 2·7	4·0	21·5 21·6	21·55
16	3·4 3·5	3·45	21·0 20·9	20·95

Tabela II.

Ilość cm^3 $^1/_{20}$ *n* NaOH zużytych do zmiareczkowania 50 cm^3 pożywki.
Szczep Nr. III a.

Ilość dni	Mineralna cm^3 NaOH		Serwatka cm^3 NaOH	
1	3·6 5·4	4·5	19·5	19·5
2	5·2 6·8	6·0	24·8 25·5	25·15
4	5·5 5·3	5·4	38·8 38·6	38·7
6	5·4 5·3	5·35	39·6 39·5	39·55
9	5·3 5·8	5·55	39·5 39·5	39·5
12	5·3 6·5	5·9	39·4 39·4	39·4
23	5·3 5·3	5·3		

Ponieważ te liczby nie zgadzają się z dotąd przez różnych autorów w innych krajach podawanemi ilościami kwasu mlekowego dla typu *Bacterium lactis acidi*, wprowadzono pewną modyfikację.

II Doświadczenie.

Zaszczepiono równorzędnie po 3 kolbki z pożywką mineralną, po 3 kolbki z serwatką i po 3 próbówki, z których każda zawierała 10 cm^3 mleka sterylizowanego. Zaszczepione kolbki zostawiono

w t^0 25 – 27° aż do ukończenia fermentacji. Pożywa mineralna i serwatka na przeciąg 10—15 dni, mleko 7 dni. Wynik doświadczenia przedstawia tabela III.

Tabela III.

Nr. szczepu	Ilość kw. mlekowego w %		Ilość kw. mlekowego w % przy dodtku $CaCO_3$		Ilość kw. mlekow. w % w mleku	Ph			
	Serwatka	Mineralna	Serwatka	Mineralna	Mleko sterylizowane	Serwatka		Mineralna	
						Początkowe	ońcowe	Początkowe	ońcowe
I a	0·256	0·088			0·606	6·17	3·43	6·22	3·50
I b	0·233	0·088	3·154	0·110	0·566	6·10	4·70	6·50	4·8
I c	0·172	0·084			0·638	6·17	3·41	6·22	3·68
II	0·238	0·047				6·17	4·51	6·22	4·41
III a	0·355	0·074	1·701	0·112	0·587	6·50	4·10	6·28	4·30
III b	0·253	0·074			0·587	6·17	4·14	6·22	4·30

Widzimy, że najmniej kwasu było wytworzone na pożywce mineralnej, więcej na serwatce, a najwięcej na mleku. Można to tłumaczyć obecnością w serwatce i mleku różnych ciał, wiążących wolny kwas, jak np. białka, fosforany itp., i tem umożliwiających jego produkcję. Wbrew oczekiwaniom, w kolbkach, które zawierały $CaCO_3$, nie został sfermentowany cały cukier, lecz fermentacja ustała przy niedużej ilości kwasu mlekowego. Mianowicie na mineralnej 0·1%, na serwatce w jednym wypadku 1·7%, w drugim 3·1% kwasu. Można to tłumaczyć tem, że na zimno nie cały kwas mlekowy zostaje związany wapniem i pozostaje część wolnego kwasu w roztworze, który wpływa hamująco na dalszą fermentację. Celem sprawdzenia tego przypuszczenia określano Ph w kolbkach kontrolnych z $CaCO_3$ niezaszczepionych i zaszczepionych, w których fermentacja odbywała się przez 7 dni. Okazało się, że w tych ostatnich odczyn był kwaśniejszy (wynosił Ph = 6·7) niż w kontrolnych (Ph = 7·16), mimo nadmiaru $CaCO_3$. Zawsze więc czynnikiem hamującym wzrost bakteryj jest zbyt duża wytworzona kwasowość, gdyż wartości Ph na mineralnej pożywce i serwatce są prawie jednakowe.

Ilość wytworzonego kwasu na mineralnej pożywce nie przekracza 0·1% (taka ilość nie ścina sterylizowanego mleka). Na serwatce różnice koncentracyj kwasu mlekowego są znacznie większe, gdyż wahają się

od 0·17% do 0·35%. Widocznie zależne jest od składu serwatki, wzgl. od większej lub mniejszej ilości ciał w niej neutralizujących. Ilość kwasu na mleku sterylizowanem waha się w granicach 0·56% do 0·60%. Kultury, które przez dłuższy czas były hodowane na żelatynowych lub agarowych pożywkach, po pewnym czasie znacznie słabiej zakwaszały, niż ten sam szczep świeżo z mleka wyizolowany. Tak np. bakterja oznaczona Nr. V a w marcu 1930 r. wytworzyła 0·0513 gr. kwasu mlekowego, a w maju tegoż roku w tych samych warunkach wytworzyła już tylko 0·0106 gr.

Robione były próby doszczepiania do kolbek tych samych bakteryj, lecz najmniejszego rozwoju, czy przyrostu kwasu nie można było zauważyć.

W celu zbadania, jak szybko przebiega fermentacja w zależności od ilości wprowadzonych bakteryj, zaszczepiono większą ilość kolbek z pożywką mineralną różnemi ilościami płynnej kultury: 5 cm^3, 0·25 cm^3, 0·1 cm^3, 10 oczek, 5 oczek, 2 oczka, 1 oczko.

Jako materjał wyjściowy służyła kolbka z pożywką mineralną, którą po zaszczepieniu oczkiem igły platynowej bakteryj z żelatyny zostawiono na 24 godziny w t^0 25^0.

Ilość kwasu obliczano zapomocą miareczkowania na początku codziennie, a potem co dwa dni. Wyniki otrzymane po 24 godzinach wykazywały duże różnice w zależności od ilości wprowadzonej kultury. Np. przy 5 cm^3 zużyto na zmiareczkowanie kwasu 7·95 cm^3 0·20582 *n* NaOH, przy 0·1 cm^3 — 4·6 cm^3 NaOH 1 oczko — 4·2 cm^3 NaOH, lecz już po 3—4 dniach nastąpiło wyrównanie, wobec czego szczegółowych wyników tutaj nie przytaczam.

Wpływ temperatury i stężenia cukru.

W celu zbadania jaki wpływ ma temperatura i stężenie cukru na szybkośc wytwarzania się kwasu mlekowego, zrobione były pożywki zawierające 0·1% peptonu i następujące ilości cukru: 0·5%, 1%, 1·5%, 2·0% i 2·5%, 3% i 3·5% laktozy, 2% glukozy, 2% galaktozy i glukoza + galaktoza w ilościach odpowiadających 2% cukru mlecznego. Szczepiono 48-godzinną płynną kulturą na 2%-owym roztworze cukru mlecznego + 0·1% peptonu, biorąc po 0·5 cm^3 na 50 cm^3 pożywki. Zaszczepione kolbki zostawiono w temperaturze 25^0 i równorzędnie taka sama ilość z takiemi samemi koncentracjami cukru była wstawiona do termostatu o t^0 30^0 i 35^0. Po dwóch dniach fermentację przerwano zapomocą ogrzania do t^0 wrzenia, a ilość wytworzonego kwasu oznaczono zapomocą miareczkowania. Do-

świadczenie w t^0 30^0 zepsuło się więc wyniki będą podane z 25^0 i 35^0. Z danych na tablicy IV, widzimy, że w t^0 25^0 ilość wytworzonego kwasu zwiększa się w miarę wzrastania koncentracji cukru, aż do 2% laktozy, gdzie osiąga swoje maximum (4·17 cm^3 $^1/_{20}$ NaOH). Od 2·5% laktozy do 3·5% laktozy, ilość kwasu spada, czyli w t^0 25^0 najodpowiedniejsza koncentracja laktozy dla najszybszej fermentacji jest 2%. Tymczasem w 35^0 maksimum kwasu jest osiągnięte przy 2·5% laktozy.

W t^0 25^0 wzrost na glukozie jest lepszy niż na galaktozie, gdy w t^0 35^0 jest odwrotnie. Jeżeli porównamy ilość kwasu wytworzonego na 2% laktozy i na glukozie + galaktozie, chociaż różnice są nieznaczne, jednak fermentacja szybciej przebiega na 2% laktozy, niż na glukozie + galaktozie, odpowiadającym 2% laktozy, pomimo, że w pierwszym wypadku muszą zajść 2 procesy: 1) rozkład laktozy na cukry proste i 2) rozkład heksozy na kwas mlekowy, kiedy w drugim wypadku ten I proces nie zachodzi.

W tablicy V są podane wyniki analogicznego doświadczenia, tylko zamiast 0·1 peptonu, było dodane 0·5% i fermentacja odbywała się w t^0 25^0 i 30^0. W tym wypadku do doświadczenia był użyty szczep Nr. III a.

Podobnie jak doświadczenie ze szczepem Nr. I c w t^0 35 maksimum kwasu jest osiągnięte przy 2·5% laktozy, podczas gdy w t^0 25^0 sądząc z Ph, najwięcej kwasu powinno być osiągnięte również przy 2·5% laktozy, jednak ilość cm^3 NaOH wskazuje co innego. Mianowicie przy 25^0 ilość kwasu wzrasta w miarę koncentracji laktozy.

Wzrost na glukozie w obu temperaturach jest lepszy niż na galaktozie. Ilość kwasu na 2% laktozy w t^0 25^0 i 30^0 jest większa niż na glukozie + galaktozie, podobnie jak w doświadczeniu z uprzedniem szczepem.

Streszczenie.

1. W badanych 63 próbkach mleka z różnych okolic Polski stwierdzono zawsze bakterje typu *Bacterium lactis acidi* Leichmann jako główne czynniki samorzutnego ścinania się mleka; nie we wszystkich próbkach stwierdzono i inne typy gazujące.

2. Dominujące bakterje typu *B. lactis acidi* były Gram +, nieruchliwe, niegazujące, odbiegały jednak morfologicznie cokolwiek od pod powyższą nazwą opisywanego typu średnio-, zachodnio- i północno-europejskiego, jak wynika bowiem z licznych pomiarów tak żywych jak zabarwionych bakteryj, są one dłuższe, zbliżone postacią komórki do rodzaju *Bacterium* niż do *Streptococcus*. Najczęściej wy-

Szczep Nr. 1 c.

Tabela IV.

25° C					35° C			
Ilość cm^3 NaOH zużytych na zobojętnienie 40 cm^3 pożywki	Średnio cm^3 NaOH	Ph	Średnia Ph	Stężenie cukru	Ilość cm^3 NaOH	Średnio cm^3 NaOH	Ph	średnia Ph
2·5 2·2 3·3	2·66	4·14 4·14 3·90	4·06	0·5% laktozy	1·75 1·65 2·5 1·5	1·85	4·22 4·29 3·90 3·81	4·05
3·8 4·1 4·5	4·13	3·81 3·81 3·81	3·81	1·0% „	2·9 1·3 1·35	1·85	4·47 3·99 4·47	4·31
2·4 3·6	3·0	3·81 3·99	3·90	1·5% „	1·3 2·8	2·05	3·88 4·70	4·32
4·0 4·0 4·1 4·6	4·17	3·81 3·81 3·72 3·72	3·76	2·0% „	2·6 2·7 2·8 1·68	2·89	4·22 3·90 3·99 3·81	3·98
3·7 4·0 4·0	3·9	3·81 3·72 3·72	3·75	2·5% „	4·0 4·0	4·0	3·64 3·72	3·68
4·4 1·4	2·9	3·81 4·47	4·14	3·0% „	1·7 2·3	2·0	3·99 4·14	4·06
4·5 1·7 1·5 4·0	2·92	4·14 4·47 3·99 3·81	4·10	3·5% „	1·3 1·6	1·45	4·65 4·21	4·43
3·1 3·3 3·7 3·68	3·44	3·71 3·81 3·81 3·72	3·76	2% glikozy	1·2 1·25 2·0	1·48	4·46 4·47 4·29	4·40
2·35 2·3 2·3 2·8	2·87	3·93 3·99 4·14 4·07	4·03	2% galaktozy	2·0 1·8 1·5 2·0	1·82	4·15 4·14 4·65 4·14	4·27
3·9 4·0 4·0 3·8	3·9	3·81 3·72 3·81 3·81	3·79	glikoza + galaktoza	1·2 1·2 1·2 1·1	1·18	4·34 4·65 4·65 4·65	4·57

Tabela V.

25⁰ C					30⁰ C			
Ilość cm^3 NaOH zużytych na zobojętnienie 40 cm^3 pożywki	Średnia cm^3 NaOH	Ph	Średnie Ph	Stężenie cukru	Ilość cm^3 NaOH	Średnia cm^3 NaOH	Ph	Średnie Ph
9·09 8·99 10·11	9·39	4·29 4·20	4·24	1·0% laktozy	9·87 9·97 9·57	9·8	4·10 4·14 4·10	4·12
10·22 10·32 10·42	10·32	4·14 4·10 4·14	4·12	1·5% „	10·69 10·89 10·79	10·79	4·06 3·99 4·04	4·03
10·01 10·11 10·11	10·07	4·14 4·14 4·14	4·14	2·0% „	10·48 10·28 10·18	10·31	4·04 4·06 4·06	4·05
10·42 13·18 10·22	11·27	4·08 3·85 4·08	4·0	2·5% „	12·22 10·99 13·23	12·14	3·99 3·99 3·90	3·96
10·62 13·08 11·03	11·57	4·10 3·99 4·08	4·05	3·0% „	11·2 11·4 11·2	11·26	3·99 3·99 3·99	3·99
11·03 13·08 11·24	11·79	4·10 3·99 4·10	4·06	3·5% „	10·89 11·2 10·99	11·02	3·99 4·08 4·10	4·05
10·11 8·58 8·68	9·12	4·29 4·20 4·29	4·26	2% glikozy	8·75 9·06 9·16	8·99	4·14 4·14 4·10	4·12
5·11 4·08 4·29	4·49	4·65 4·70 4·65	4·66	2% galaktozy	5·09 4·88 4·88	4·95	4·65 4·70 4·65	4·66
10·01 9·81 9·6	9·8	4·14 4·10 4·14	4·12	glikoza + galaktoza	9·67 9·77 9·57	9·67	4·14 4·10 4·14	4·12

stępowały typy o rozmiarze $0{\cdot}8 - 1{\cdot}25 \times 1{\cdot}25 - 1{\cdot}65\ \mu$, rzadziej o jeszcze wybitniejszym kształcie pałeczkowym, $0{\cdot}8 \times 1{\cdot}85 - 2{\cdot}10\ \mu$, przyczem występowały przeważnie pojedyńczo i we dwoinkach, formy natomiast dłuższe tworzyły zwykle wyraźne łańcuszki.

3. Do bliższych badań użyto 3 szczepy, różniące się sposobem wzrostu, a mianowicie szczep I nie tworzący nigdy łańcuszków, szczep II występujący zawsze w łańcuszkach i szczep III tworzący tak jedynki i dwoinki, jak i łańcuszki.

4. Ilość wytworzonego kwasu mlekowego prawoskrętnego przez badane bakterje zależna jest od składu pożywki, t. zn. od ilości zawartych w pożywkach substancyj kwas wytwarzany neutralizujących; na pożywkach „mineralnych" z 0·1% peptonu przy 4·5% laktozy ilość wytworzonego kwasu nie przekraczała 0·1%, w mleku natomiast dochodziło do 0·6%.

5. Najszybsza fermentacja cukru mlekowego odbywa się w 25 do 35° C przy ilości laktozy 2—2·5%, przyczem z laktozy powstaje więcej kwasu mlekowego niż z proporcjonalnych ilości mieszanki glikozy i galaktozy.

6. Wzrost i fermentacja na glikozie jest zazwyczaj lepszą niż na galaktozie, wyjątek stanowił szczep I c przy 35° C, kiedy ilość wytworzonego kwasu mlekowego z galaktozy była nieco większa niż z glukozy.

7. Stwierdzono szybkie zatracenie zdolności fermentacyjnej wszystkich szczepów przy hodowli na agarze lub żelatynie serwatkowej.

Panu Prof. Dr. K. Bassalikowi, kierownikowi Zakładu Fizjologji Roślin Uniw. Warsz., pod którego kierunkiem wykonałam powyższą pracę, składam i na tem miejscu serdeczne podziękowanie.

Z Zakładu Fizjologji Roślin Uniwersytetu Warszawskiego.

Résumé.

1. L'examen des 63 échantillons de lait, provenant de différents endroits de la Pologne, a permi de constater toujours des bactéries du type *Bacterium lactis acidi* Leichmann, comme agent principal de la coagulation spontanée du lait; on n'a pas trouvé toujours dans tous ces échantillons d'autres types gasogènes.

2. Les bactéries dominantes du type *B. lactis acidi* prennent Gram, sont immobiles et non gasogènes; elles diffèrent néanmoins morphologiquement un peu du type décrit sous ce nom pour l'Europe centrale, occidentale et septentrionale: de nombreuses mesures de

bactéries vivantes et colorées font voir qu'elles sont plus longues et se rapprochent plutôt quant à la forme céllulaire, au genre *Bacterium* qu'à *Streptococcus*. Les types les plus fréquants mésurent $0{\cdot}8 - 1{\cdot}25 \times 1{\cdot}25 - 1{\cdot}65\ \mu$, plus rarement, les formes franchement bâtonneuses mésurent $0{\cdot}8 \times 1{\cdot}85 - 2{\cdot}10\ \mu$. En même temps elles vivent une par une et par paire, tandis que les formes plus longues donnent habituellement des chaînettes.

3. Trois souches, différentes au point de vue la croissance, constituèrent le matériel de recherches: la souche I ne donnant pas de chaînettes, la souche II donnant toujours de chaînettes et la souche III, dont les céllules vivent une par une, par paire et forment aussi des chaînettes.

4. La quantité d'acide lactique dextrogyre, formée par les bactéries étudiées, dépend de la composition du milieu, c. à d. de la quantité des substances contenues dans le substratum, qui neutralisent l'acide naissant: sur les substratums minéraux, additionés de $0{\cdot}1^0/_0$ de peptone et en présence de $4{\cdot}5^0/_0$ de lactose, la quantité de l'acide lactique ne dépaissait pas $0{\cdot}1^0/_0$, tandis que dans le lait elle atteignait $0{\cdot}6^0/_0$.

5. La fermentation du sucre lactique est la plus rapide à 25—35° C en présence de 2 à $2{\cdot}5^0/_0$ de lactose et c'est la lactose qui fournit davantage de l'acide lactique que la glucose et la galactose, ajoutées à la même proportion.

6. La croissance et la fermentation sur glucose sont habituellement meilleures que sur galactose; l'éxcéption fait la souche I, qui à 35° C seulement, fournit au dépens de la galactose, un peu plus d'acide lactique qu'au dépens de la glucose.

7. On a constaté la perte rapide de la faculté fermentative de toutes les souches, cultivées sur gélose ou gélatine au petit lait.

Institut de physiologie végétale de l'Université de Varsovie.

Literatura.

1) Beijerinck — cytuje Löhnis str. 159.

2) van Dam, W. Über d. Einfluss der Milchsäure auf die Milchsäuregärung. — Biochem Zeitschrift **87**. 1918, str. 107.

3) Escherich. Die Darmbakterien des Neugeborenen und Saüglings. — Fortschrifte d. Medicin **3**. 1885, str. 518, 547.

4) Günther u. Thierfelder. Bakteriol. und Chemische Untersuchungen über d. spotane Milchgerinnung. — Archiv f. Hygiene XXV. 1895, str. 164.

5) Grotenfelt. Über d. Virulenz einiger Milchsäurebakterien. — Fortschr. d. Medicin **7**. 1889, str. 129.

6) Hüppe — cytuje Lafar w Handbuch der Technischen Mykologie, t. 2. 1905—1908, str. 69.

7) Knudsen, S. u. Sorenson, A. Über Milch als Nährboden f. gewisse Milchsaürebakterien. — Zentralbl. f. Bakter. II Abt. 1927, t. **71**, str. 500.

8) Löhnis. Handbuch d. landwirtschaftlichen Bakteriologie. 1910, str. 198. Berlin.

9) Leichmann. Über die Beteiligung des *Bacillus lactis aërogenes* an der freiwilligen Säuerung der Milch. — Zentralbl. f. Bakteriol. 1899, t. **5**, str. 344, 390.

10) Makrinow. Methoden zur Untersuchung der Milchsaüremikroben. — Zentralbl. f. Bakt. II Abt. 1927, t. **71**, str. 399.

11) Rahn, Otto. Die Studengärleistung d. Einzelle von *Bacterium lactis acidi*. — Zentralbl. f. Bakter. II Abt. 1911, t. **32**, str. 387.

12) Schierbeck. Über die Variabilität der Milchsaürebacterien mit Bezug auf die Gärungsfähigkeit. — Arch. f. Hygiene. 1900, t. **38**, str. 294.

13) Schweitzer, Gustav. Milchhygienische Studien. — Zentralbl. f. Bakter. II Abt., t. **10**, str. 568.

14) Serkowski. Mleko i Mleczarstwo. 1917, Warszawa, wyd. Gebethner i Wolff.

15) Svanberg, Olaf. Über die Wachstumgeschwindigkeit der Milchsaürebakterien bei verschiedenen *H*-Konzentrationen. — Zeitschr. f. Physiol. Chemie. 1919/20, t. **108**, str. 120.

16) Timpe, Hermann. Über die Beziehungen der Phosphate und des Caseïns zur Milchsäuregärung. — Arch. f. Hygiene. 1893, t. **18**, str. 1.

17) Virtanen, A. I., Wichmann, E. I. und Lindstroëm, B. Über die Milchsaüregärung. — Zeitschr. f. Physiol. Chemie. 1927, t. **166**, str. 21.

18) Weigmann. Versuch einer Einteilung der Milchsaürebakterien des Molkereigewerbes. — Zentralbl. f. Bakt. 1899, t. **5**, str. 827, 859.

19. Weigmann. Pilzkunde der Milch. 1924, str. 50. Berlin, wyd. Paul Parey.

Bios, auksymony, witaminy i kolloidy w świetle badań nad wiązaniem azotu przez *Azotobacter chroococcum* Beij.

(Studien über den Einfluss von Bios, Auximonen, Vitaminen und Kolloiden auf die Stickstoffbindung durch *Azotobacter chroococcum* Beij.)

Napisali

K. BASSALIK i JANINA NEUGEBAUER.

Z szerzej zakrojonych i od kilku lat przeprowadzanych badań nad *azotobakterem* podajemy poniżej tylko te wyniki, które odnoszą się do zdolności organizmu tego do wiązania azotu w zależności od składu podanej mu pożywki. Kwestję ras biologicznych i innych tutaj poruszać nie będziemy, a wszystkie zamieszczone wyniki odnoszą się do szczepów *A*, P_3, *C* lub holenderskiego (*H*), co do których ustalono, że w badanych warunkach zachowują się — co do wiązania azotu — prawie jednakowo.

1. Szkic historyczny zagadnienia.

Niezmiernie ciekawą, nieraz wprost fascynującą jest historja poznawania warunków wiązania azotu przez *azotobaktera*; widzimy w niej rozwój wnikliwej myśli, postęp metod, śmiałe skoki do nowych koncepcyj, to znów nawroty, chaotyczne zawikłania, uwstecznienia. Odkrywca tego organizmu, M. W. Beijerinck, w rok już (1902) po pierwszej swej publikacji, zaprzeczył *azotobakterowi* w czystej hodowli tej zdolności. Z właściwą sobie genjalną aczkolwiek nieco chaotyczną ekspansywnością a bystrą pomysłowością podaje bardzo liczne doświadczenia, z których wynika, iż *azotobakter* sam, w czystej hodowli, azotu nie wiąże, a czynić to zdolny jest jedynie w hodowlach mieszanych z innemi towarzyszącemi mu bakterjami, głównie: *Radiobacter, Aerobacter, Granulobacter* (i *radicicola*). Mniema Beije-

r i n c k, że *azotobakter* korzysta z jakiegoś nieznanego, prawdopodobnie azotowego związku, niezbędnego mu dla rozwoju i czynności wiązania azotu, a wytwarzanego przez te bakterje towarzyszące. Wreszcie, w 6 lat później (1908) podaje, że mannit i cukry nie nadają się jako b e z p o ś r e d n i e źródła energji dla *azotobaktera*, i że zatem w czystej hodowli na cukrach nie wiąże on azotu, natomiast kwasy organiczne, a w szczególności kwas jabłkowy, jako odpowiedniejsze źródła węgla umożliwiają mu tę czynność nawet w czystej hodowli. Coprawda wyniki analityczne nawet najdodatniejsze — przy użyciu 2 *g* jabłczanu wapnia, w pożywce na wodzie w o d o c i ą g o w e j, z d o d a t k i e m ziemi p r ó c h n i c z n e j lub 10—20% wody k a n a ł o w e j wykazały tylko 1·5—1·8 *mg* związanego azotu, przy zastosowaniu natomiast na takiej samej pożywce, surowych, więc n i e c z y s t y c h hodowli, 1·8—4·7 *mg N* — nie powinny były skłonić B e i j e r i n c k a do porzucenia swego poprzedniego jasnego stanowiska, niemniej jednak zachwiały go na niem. Reasumując wyniki prac B e i j e r i n c k a — mimo pewnego odskoku w ostatniej cyt. pracy — można powiedzieć, że *azotobakter* w czystych hodowlach nie wiąże azotu, a czyni to tylko w obecności innych bakteryj, które zdają się mu dostarczać jakiegoś nieznanego w swej naturze chemicznej związku. Ciało to moglibyśmy dla krótkości za W i l d i e r'em nazwać i porównać z „biosem“, jakkolwiek B e i j e r i n c k sam nigdy tego porównania nie uczynił.

B e i j e r i n c k, już w swej pierwszej pracy (1901), zawiadamiając o odkryciu *azotobaktera*, podaje, że obecność p r ó c h n i c z n e j ziemi w pożywce potęguje zdolność *azotobaktera* do wiązania azotu. W następnej (1902) tłumaczy fakt ten obecnością w takiej — w mikroorganizmy niezwykle bogatej — glebie tego właśnie czy tych związków nieznanych a niezbędnych dla *azotobaktera*, a wytworzonych w niej przez bakterje takie jak *Radiobacter* i i. A jednak wbrew własnym wynikom i bardzo przekonywującym doświadczeniom M. B e r t h e l o t a (1892) nad znaczeniem próchnicy dla procesu biologicznego wiązania azotu, najwidoczniej pod wpływem licznych prac zwłaszcza niemieckich autorów, dopatruje się przyczyn niezdolności wiązania azotu przez *azotobaktera* w c z y s t e j hodowli w n i e o d p o w i e d n i e m źródle węgla. Wątek słusznej myśli co do znaczenia p r ó c h n i c y podejmują już inni. Jako pierwszy, zdaje się, B. H e i n z e (1904) wypowiada pogląd, że czynnikiem stymulującym wiązanie azotu przez *azotobaktera* są kwasy próchnicowe i $CaCO_3$. A również i F. L ö h n i s (1904) zaleca już wówczas używanie wywarów ziemnych. Wreszcie S. K r z e m i e n i e w s k i (1906, 1908) i S. i H. K r z e m i e n i e w s c y

(1907) sprawę znaczenia próchnicy przedstawiają w niezwykle jasno a systematycznie ujętych doświadczeniach, w których wykazują, wbrew większości autorów niemieckich, że czyste hodowle *azotobaktera* wiążą bez dodatku ziemi próchnicznej lub preparatów próchnicowych (humianów, zwłaszcza sodu), azot tylko w bardzo słabym stopniu; związki zaś próchnicowe, jak to chcieli Stoklasa, Heinze i i., nie działają jako źródła energji dla *azotobaktera*; decydujące te wyniki potwierdził wkrótce N. K. Pillai (1908). Prace Krzemieniewskich miały przedewszystkiem to wielkie znaczenie, że udowodniły raz na zawsze, że *azotobakter* w czystych hodowlach nie wiąże azotu wcale (jak to już twierdził w 1902 Beijerinck) lub bardzo słabo, a czyni to tylko w obecności związków próchnicznych, przyczem naturalne te związki są o wiele czynniejsze niż sztuczne, otrzymywane n. p. z cukru. Nie ulega na podstawie tych prac najmniejszej wątpliwości, że inni badacze, a szczególnie Gerlach i Vogel, operowali, wbrew swoim twierdzeniom, hodowlami nieczystemi.

Odtąd rozpoczyna się okres badań, starających się zanalizować i wytłumaczyć to zagadkowe działanie związków próchnicowych.

Na podstawie precyzyjnych doświadczeń H. Krzemieniewskiej (1908, 1910), zbijających absurdalne na owe nawet czasy twierdzenie Gerlacha i Vogla, Thielego i i. co do zbędności w pożywkach dla *azotobaktera* tak ogólnie jako niezbędnych dla organizmów uznawanych pierwiastków, jak *K*, *Mg* i t. d. a niemożności zastąpienia tych przez inne pokrewne, można było sądzić, iż związki próchnicowe nie działają naskutek zaadsorbowania właśnie tych pierwiastków. Niedodanie bowiem tych pierwiastków w odpowiednich związkach do pożywek, odbijało się fatalnie na rozwoju i działalności *azotobaktera*, mimo że pożywki te zawierały „naturalny“ humian sodowy; pozatem wpływ dawkowania tych związków objawiał się nader wyraźnie. Toteż w następstwie Kaserer i Remy i Rösing starali się wytłumaczyć skuteczne działanie związków próchnicowych obecnością w nich tych pierwiastków, których H. Krzemieniewska nie wprowadziła w krąg swych dociekań, a mianowicie *Fe* i i. Kaserer objaśniał działanie próchnicy obecnością w niej glinokrzemianów, fosforanów, związków manganu i żelaza, i podaje nawet receptę na skuteczny preparat, zastępujący próchnicę, a składający się z 2 *g* $Al_2(SO_4)_3$ + 0·5 *g* $FeCl_3$, strąconych przez Na_2HPO_4 i „rozpuszczonych“ w 3 *g* K_2SiO_3, uzupełniony do 1 *l* i gotowany przy 2 atm., który dodany do 1 litra pożywki z 1 *g* glikozy, 0·1 *g* gipsu, 0·1 *g* $MgSO_4$ i 0·01 *g* $MnSO_4$ (bardzo skoncentrowana pożywka!) daje znakomite wyniki! Remy i Rösing i osta-

tecznie Rösing bardzo stanowczo tłumaczą działanie próchnicy zaadsorbowanem przez nią żelazem. Żaden jednak z tych badaczy nie przeprowadził wszak niebolesnego dla siebie *experimentum crucis*, spopielając te czynne związki próchnicowe i porównywując ich działanie z działaniem ich popiołu! Natomiast skuteczność przez siebie obranego czynnika demonstrowali na podstawie działania preparatów próchnicznych „oczyszczonych" z czynnika efektywnego i przez regenerowanie skuteczności preparatów po dodaniu znowu badanego czynnika.

W tym stanie rzeczy A. Prażmowski, a nieco później Söhngen w Beijerinckowskim laboratorjum, wysuwają tezę, że próchniany (humiany) działają naskutek swego stanu kolloidalnego. Prażmowski coprawda działanie próchnicy niecałkowicie sprowadza na jej stan kolloidalny, a dowodzi, że i związki zaadsorbowane przez nią działają; wykazuje, że naturalne humiany skutecznie można zastąpić sztucznemi, składającemi się z agaru czy dekstryny, $Fe(OH)_3$ jako „sakcharosolu", krzemianu sodowego i węglanu wapnia lub magnezu; nawet, na podstawie wyników uzyskanych z takim „sztucznym humianem" (p. 903), w którego skład wchodził również i pepton, wnioskuje, że skuteczność naturalnych związków próchnicznych polegać może przedewszystkiem i na znajdujących się w niej organicznych a kolloidalnych związków azotu (p. 907) — częściowy więc nawrót do poglądów Beijerincka z 1902. Ostatecznie jednak, nie mogąc żadnemu składnikowi swych rozlicznych „sztucznych humianów" ani samemu tylko ich stanowi kolloidalnemu przyznać decydującego znaczenia, konkluduje, jak sądzimy nader słusznie, że w próchnicy działa cały kompleks ciał azotowych i bezazotowych organicznych i nieorganicznych, adsorbujących różne składniki mineralne jak zwłaszcza zasady, krzemiany itp. w odpowiedniem ilościowem ustosunkowaniu wzajemnem, pozostający w stanie kolloidalnym. Söhngen (1913) natomiast uważa, niewątpliwie pod sugestją ówczesnego świetnego rozwoju nauki o kolloidach, sam stan kolloidalny próchnicy za decydujący, co stara się wykazać nietylko na przykładzie wiązania azotu przez *azotobaktera*, ale również i na innych ważnych procesach mikrobiologicznych. Tłumaczy to działanie kolloidów, w szczególności na *azotobaktera*, pochłanianiem przez wielką powierzchnię kolloidalnych substancyj gazów niezbędnych dla życia *azotobaktera* (tlenu) i dla jego działania (azotu). Tym poglądom, a zwłaszcza Söhngena, przeciwstawiają się Löhnis i Green (1914), nie mogąc im jednakże nic doświadczalnie konkretnego przeciwstawić.

Zaczyna się odtąd pogoń licznych badaczy za jakimś jednym czynnikiem, stymulatorem, działającym w minimalnych dawkach, a powodującym to choć zagadkowe, ale niezaprzeczalnie potężne działanie licznych, naturalnych i sztucznych kolloidów, a związków próchnicowych, jako najwięcej skomplikowanych i zmiennych kolloidów w glebie, w szczególności. Efekt stymulatora w tym wypadku podał już wszak dawno, bo w 1857, genjalny Raulin z okazji swych na owe czasy zupełnie bezprzykładnych doświadczeń nad odżywianiem kropidlaka. Umysł biologa, jakby zahipnotyzowany klasyczną regułą metody badań: określenia znaczenia każdego poszczególnego czynnika w naturze i rozmiarze swym przez stopniowe jego wykluczanie, szuka i odkrywa tak łatwo nieraz ten jeden, jedyny czynnik. Staje się nim, np. Mn (Montanari), Cu i CS_2 (Fred), Sr czy Ca (Burk i Lineweaver) to znów U (Kayser, Stoklasa i Penkova), to Ra (Kayser, Stoklasa), to znów Si, Ti, V lub Al, lub ostatnio — *but not least* — Mo (Bortels). Najpoważniej, sądzimy, przedstawiają się z tej dziedziny badania Bortels'a, znane nam jednakże, niestety, z krótkiego referatu. Omówimy je w części doświadczalnej szczegółowiej, ze względu na ich częściową zgodność z naszemi własnemi badaniami, ich podłoże logiczne jak i ich aktualność.

Wkońcu sprowadza się działanie *azotobaktera* na specyficzne, często na temperaturę wrażliwe, organiczne substancje, powiedzmy więc na auximony (Zoond, nasze własne doświadczenia) wydzielone z roślin lub zwierząt, na witaminy (Itano i inni), specyficzne ciała wydzielane przez niektóre bakterje (my i Kotkówna).

Powyżej przedstawiony stan rzeczy, wiernie, jak sądzimy, oddający w głównych zarysach historję badań nad wiązaniem azotu przez *azotobaktera*, postaramy się w części doświadczalnej choćby krótko krytycznie oświetlić. Niewątpliwem jest, że próby zmierzające do wyjaśnienia jakiegoś zagadnienia, a przeprowadzane na dłuższej przestrzeni czasu, jak nasze, ulegają wahaniom w różnych kierunkach, zależnie od chwilowej aktualności pewnych spostrzeżeń czy nowych koncepcyj. Myśl jednak przewodnia naszych nader licznych doświadczeń nie uległa, mimo długotrwałego jej realizowania, odchyleniom zasadniczym, a wyrazić da się ona w słowach, pojęciach i zagadnieniach: kolloid, stymulator, witamina, auximon i bios.

2. Metodyka badań.

1. Skład pożywki standartowej. Powyżej przedstawiony stan rzeczy narzucał poniekąd sam przez siebie pewną metodykę

pracy. Pożywka, na której miało się hodować *azotobaktera*, powinna być nam w swym składzie analitycznym jaknajkompletniej znana. Duże doświadczenie jednego z nas, zdobyte dawniej w toku pracy nad rozkładem krzemianów, dyktowało jak największą ostrożność i podejrzliwość co do czystości używanych do pożywek chemikalji; to samo ma zastosowanie do naczyń i wody. Z pionierskiej pracy H. Krzemieniewskiej wynikało, że zapotrzebowanie *azotobaktera* na składniki mineralne, poza fosforem, jest bardzo nieduże. Taki stan rzeczy upraszcza zestawienie pożywki o tyle, że przy wystarczającej słabej jej koncentracji niebezpieczeństwo wprowadzenia mimowolnie „zanieczyszczeń — nieraz może bardzo skutecznych — maleje. Po licznych próbach ustaliliśmy jako skład standartowej pożywki mineralnej następujący:

0·02%	$CaCO_3$
0·05%	KH_2PO_4
0·02%	$MgSO_4$ (+ 7 aq)
0·01%	NaCl
0·001%	Na_2SiO_3
0.0005%	$FeCl_3$
0·00001%	$MnSO_4$
„	$ZnSO_4$
„	$Al_2(SO_4)_3$

Coprawda, nie wszystkie poniżej podane doświadczenia były wykonane na tej standartowej pożywce. Przez dłuższy czas używaliśmy zamiast ostatecznie ustalonych 0·02% $CaCO_3$ i 0·05% KH_2PO_4 — 0·02% $CaHPO_4$ i 0·02% KH_2PO_4, dawaliśmy początkowo więcej $CaCO_3$, od 0·2 do 0·1%. Rozumie się, że pożywkę rozpuszczalnych soli przygotowywaliśmy w jednem naczyniu dla wszystkich kolb, rozpipetywując ją do każdej kolby, $CaCO_3$ zaś zawsze odważaliśmy dokładnie do każdej kolby oddzielnie.

Duże trudności przedstawiał wybór odpowiedniego źródła węgla dla *azotobaktera*. Z samego początku stosowaliśmy klasyczny mannit. Jednakże cena dostatecznie czystych preparatów uniemożliwiała nam stosowanie jego do masowych naszych hodowli.

Również glikoza, nawet preparowana wedle Soxhleta, zawiera stosunkowo dużo zanieczyszczeń, wprowadzonych mimowolnie przy jej preparowaniu, tak, że ostatecznie postanowiliśmy używać wyłącznie oczyszczonego cukru trzcinowego, jakkolwiek działał on spośród wszystkich cukrów najsłabiej, jak to wykazuje poniższa tabelka (I). 100 cm^3 pożywki standartowej zawierało 5 cm^3 wywaru ziemnego

i po $^1/_{20}$ *mol* dwucukrów, a po $^1/_{10}$ *mol* glikozy, mannitu, gliceryny i jabłczanu wapnia.

Azotobacter P_3. 27—28° C. **Tabela I.** 14 dni (Tage) 30. I. 26.

Źródła C — (Quellen).

	$^1/_{20}$ *mol*		$^1/_{10}$ *mol*			
	C. trzcin. (Rohrzucker)	Maltozy (Maltose)	C. mlekowego (Milchzucker)	Glikozy (Glukose)	Mannit (Mannit)	Gliceryny (Glyzerin)
Przybytek (Gewinn) *N mg*	3·6 ± 0·12	4·4 ± 0·20	0	3·8 ± 0·16	3·8 ± 0·24	0

Z powyższej tabelki wynika, że cukier trzcinowy, wbrew twierdzeniu Krainskij'a, jest przez *azotobaktera* zużywany, jakkolwiek działa gorzej niż zwykle używany mannit, glikoza, a szczególnie maltoza. Pozatem okazało się, iż laktoza nie nadaje się zupełnie, jak również i gliceryna; odnosi się to coprawda tylko do szczepów *azotobaktera* w tym doświadczeniu użytych: *A* i P_3.

Ustalając odtąd cukier trzcinowy jako stałe źródło węgla w naszej standartowej pożywce mineralnej, należało określić optymalną jego w pożywce koncentrację. Zbadaliśmy szereg koncentracyj od $^1/_{80}$ do $^1/_5$ *mol*. Im słabsza koncentracja, tem wzrost *azotobaktera* następował szybciej. Jednakże ze względu na stosowany przez nas czas hodowli używaliśmy we wszystkich poniżej przedstawionych doświadczeniach, $^1/_{20}$ *mol* cukru trzcinowego, mimo, że optimum jego leżało raczej przy $^1/_{40}$—$^1/_{50}$ *mol*. Co do jego zanieczyszczeń, to mimo wysokiego stanu „czystości“ były one jednak znaczne. Z 3 porcyj cukru, z których czerpaliśmy w toku poniższych doświadczeń (pierwotny zapas nie starczył na wszystkie doświadczenia), najczystsza zawierała w 100 *g* 15·65 *mg* popiołu i 2·63 *mg N*, najmniej czysta w 100 *g* 18·6 *mg* popiołu, względnie 6·07 *mg N*. Wobec tego wprowadzaliśmy, mimowoli, do każdej kolby w pożywce standartowej w 1·71 *g* cukru trzcinowego około 0·2 *mg* popiołu i 0·04 do 0·1 *mg* azotu. Że zanieczyszczenia te bynajmniej nie są bez znaczenia, wskazuje poniższa tabelka II, w której użyto po 100 cm^3 standartowej pożywki na wodzie wodociągowej.

Rozszerzenie powyższego doświadczenia na poprzednio (w tab. I) próbowane cukry użyte w pożywce standartowej bez dodatku wywaru ziemnego, wytłumaczyło nam dobre działanie w poprzedniem doświadczeniu maltozy; okazało się, że dodatek popiołu (7·85 *mg*) z 5-krotnej ilości użytej maltozy podniósł wydajność *N* do 2·96 *mg*!

Azotobacter C. 26—28° C. **Tabela II.** 14 dni (Tage). 29. VI. 30.

Działanie popiołu sakcharozy (w 100 *g* = 18·6 *mg* popiołu).
Wirkung der Saccharoseasche (in 100 *g* = 18·6 *mg* Asche).

	Przybytek *N* (Gewinn) *mg*
H_2O font. + $^1/_{40}$ *mol* Sacch.	0·77 ± 0·16
„ „ + $^1/_{20}$ „ „	1·10 ± 0·2
H_2O bidest. + $^1/_{40}$ *mol* Sacch.	0·28 ± 0·1
„ „ „ „ „ „ + 9·3 *mg* popiołu (Asche)	1·85 ± 0·08
„ „ + $^1/_{20}$ *mol* Sacch.	0·42 ± 0·14
„ „ „ „ „ „ + 9·3 *mg* popiołu (Asche)	2·10 ± 0·09

2. Woda. Na tem jednakże nie wyczerpuje się niestety lista mimowolnych zanieczyszczeń, wprowadzanych do pożywki standartowej. Woda wodociągowa warszawska zawiera, według licznych naszych określeń, 156 do 192 *mg* składników mineralnych w 10 *l*. Używanie więc wody wodociągowej z samego początku było niewskazane, choć w pierwszym okresie naszych doświadczeń, tutaj jednak nie referowanych, używaliśmy niekiedy zamiast wody destylowanej $^2/_3$ lub $^1/_3$ wody wodociągowej. Zwykłej wody destylowanej wogóle nie używaliśmy, a tylko po przedestylowaniu jej jedno- lub dwukrotnem ze i do szkła jenajskiego, i zawsze w stanie świeżym. Ale i taka woda bynajmniej nie jest czystą. 1 *l* w ten sposób destylowanej wody zawierał w najlepszym wypadku 0·11 *mg*, w najgorszym nawet 1·42 *mg* popiołu. A zatem, mimo starannego przedestylowania wody i użycia jej w stanie świeżym, wprowadziliśmy mimowoli do 100 cm^3 pożywki standartowej 0·01 do 0·14 *mg* nieznanych nam zanieczyszczeń! Że i te zanieczyszczenia nie są bynajmniej obojętne, a zwłaszcza zanieczyszczenia mineralne wody destylowanej nawet szczególnie czynne, wykazują rezultaty doświadczenia zestawionego w tabelce III (str. 222).

Najciekawszy z tych rezultatów jest ten, że popiół 10-krotnej ilości dest. wody (w tym wypadku 1·114 *mg*) działał skuteczniej na wiązanie *N* niż kilkunastokrotna ilość popiołu wody wodociągowej! Obok zanieczyszczeń mineralnych wprowadzamy z wodą destylowaną i zanieczyszczenia organiczne, a szczególniej ciała lotne. Wyników tych doświadczeń narazie tutaj nie podamy, gdyż nie były one dostatecznie jednolite.

3. Szkło. Każde szkło naczyń jest źródłem mimowolnych zanieczyszczeń. Szkło jenajskie jest przy tem P_H, jakie należało w naszych hodowlach stosować, ze wszystkich handlowych szkieł najmniej rozpuszczalne. To też przez dłuższy czas używaliśmy wyłącznie szkła jenajskiego. Ze względów jednak koniecznych oszczędności, wobec tego zwłaszcza że szkło jenajskie niszczy się przy kjeldahleniu znacznie szybciej niż Pyrex, przeszliśmy na wyłączny użytek Pyrexu. Oczywista, że wszystkie kolby w jednem doświadczeniu były albo z jenajskiego szkła albo z Pyrexu. Pojemność kolb jenajskich wynosila zawsze 1 *l* dla 100 cm^3 pożywki, kolb Pyrex 700 cm^3 dla tej samej ilości pożywki.

Zamykaliśmy kolby luźnemi dużemi korkami z waty wełnianej, wyjątkowo z bawełnianej niehygroskopijnej.

4. Temperatura. O ile możności stosowaliśmy opt. t^0 28 C; w serjach doświadczeń, składających się nieraz ze 100 i więcej kolb, nie można ich było pomieścić w termostacie, wobec czego umieszczaliśmy je w ciemni, posiadającej, zwłaszcza w zimie, nie bardzo wahającą się temperaturę. Notowano oczywista codzienne max. i min. t^0. W tabelkach zawsze podamy t^0 hodowli.

5. Czas trwania hodowli. Ustalenie najodpowiedniejszego czasu trwania hodowli wymagało licznych wstępnych doświadczeń z uwzględnieniem t^0 i koncentracji cukru. Dla obranej ostatecznie koncentracji $^1/_{20}$ *mol* cukru i przy 26—28^0 C najodpowiedniejszym czasem okazało się 14 dni, zwłaszcza wobec stosowanego przez nas szczepienia możliwie małemi ilościami komórek. O ile nie można było przeprowadzić hodowli w t^0 26—28^0 C, czas doświadczeń, w zależności od t^0 ciemni, przedłużaliśmy do 3, wyjątkowo nawet do 4 tygodni. Czyniliśmy to w znacznej mierze i przez wzgląd na zawsze opóźniony rozwój *azotobaktera* w pożywce standartowej, gdyż istotnie, w pożywkach sprzyjających rozwojowi *azotobaktera* można było likwidację hodowli przeprowadzać już po 8 dniach, zwłaszcza przy t^0 hodowli optymalnej (więc 26—28 C, wbrew dziwacznym twierdzeniom Fetschenki, podającym opt. t^0 dla *azotobaktera* na 16^0 C).

6. Czystość użytych hodowli. Najpoważniejszym błędem w bardzo licznych pracach nad *azotobakterem* wydaje nam się nieprzestrzeganie przez badających jaknajskrupulatniejszej czystości użytego *azotobaktera*, mimo, że już z pierwszych prac Beijerincka a późniejszych Krzemieniewskich znaczenie czystości hodowli wyłaniało się zupełnie wyraźnie. Popełnianie grzechów co do czystości użytej hodowli jest zrozumiałe, gdyż większość badaczy, zwłaszcza chemicy i rolnicy nie posiadają dostatecznego wyszkolenia i doświadczenia mikrobiologicznego. Ten brak „kultury mikrobiologicznej“

Azotobacter A. 28° C. **Tabela III.** 14 dni (Tage). 28. VI. 27.

Działanie wody wodociągowej. (Wirkung des Leitungswassers). (1 *l* = 17·68 *mg* popiołu — Asche).

H_2O bidest. e vitro Jena	H_2O font.	H_2O bidestillata e vitro Jena					
		1 × ± 17·7 *mg* popiołu (Asche)	2 × ± 35·4 *mg* popiołu (Asche)	5 × ± 88·4 *mg* popiołu (Asche)	10 × ± 176·8 *mg* popiołu (Asche)	30 × ± 530·5 *mg* popiołu (Asche)	1.114 *mg* popiołu (Asche) ex aq. dest.
0·26 *mg N* ± 0 0	0·63 ± 0·06	0·64 ± 0·04	1·11 ± 0·08	2·70 ± 0·06	4·40 ± 0·03	2·52 ± 0 42	4·94 ± 0·16

Azotobacter A, C, P_3 27° C. **Tabela IV.** 14 dni (Tage). 29. III. 28.

Wpływ P_H — (Wirkung).

P_H	4·72	5·14	5·90	6·47	6·91	7·05	7·16	7·26	7·61	8·0	8·21	8·54	8·85	9·21	9·54
Przybytek (Gewinn) *N mg*	0	0	0	5·48 ± 0·22	5·57 ± 0·35	5·96 ± 0·26	6·24 ± 0·41	5·54 ± 0·32	5·48 ± 0·48	7·9 ± 0·2	9·15 ± 0·42	6·92 ± 0·56	6·52 ± 0·42	4·2 ± 0·3	3·23 ± 0·65

mści się jednak na wynikach prac w jaskrawy sposób. Uzyskanie czystej hodowli *azotobaktera* wymaga często anielskiej cierpliwości i litewskiej uporczywości. Każde zanieczyszczenie hodowli *azotobaktera* na naszej standartowej pożywce objawia się lepszym rozwojem *azotobaktera* i większą ilością związanego azotu, a jedynie charakter zanieczyszczenia decyduje o rozmiarze jego efektu korzystnego. Najpospolitsze zanieczyszczenia *azotobaktera* polegają na naturalnych jego symbiontach, w rodzaju Beijerinckowskich *Radiobacter* i i., przylegających do śluzowych błon jego uporczywie, a te właśnie dają największe efekty, jak to przedstawimy później szczegółowiej.

7. Szczepienie. Szczepienia w tutaj referowanych doświadczeniach dokonywaliśmy zawsze igłą platynową, jakkolwiek zalecałbym raczej używanie kapilar szklanych lub, lepiej, krzemionkowych, przez wzgląd na niewątpliwie szkodliwe działanie oligodynamiczne platyny na przylegające doń bezpośrednio osobniki bakteryjne. Konieczność jednak zaszczepiania dużej ilości kolb zmusiła nas do używania w tych doświadczeniach igły platynowej, gdyż odkażanie kapilar trwa dłużej, a łamią się łatwo.

Przenosiliśmy zawsze — ze świeżych agarowych kultur, możliwie jaknajmniejszą ilość *azotobaktera*, jak wykazały liczenia, po 15 do 40 komórek (oczywiście w próbkach kontrolowanych). Rozwój początkowy *azotobaktera* w nowem środowisku zawsze jest zahamowany, a szczególnie przy szczepieniu małej ilości komórek. Ale wówczas występuje wpływ czynników ułatwiających jego rozwój tem jaskrawiej. Spostrzeżenia bowiem Wildier'a nad „biosem" u drożdy mogą być według naszych doświadczeń w całej pełni przeniesione na *azotobaktera* — oczywiście uwzględniając charakter odmiennych jego właściwości fizjologicznych. Poza tem, przez przenoszenie małych ilości komórek unikamy wprowadzenia do badanej hodowli nowej dozy nie dających się skontrolować zanieczyszczeń, jakkolwiek powstaje ryzyko nieprzeniesienia wogóle żadnych zdolnych do rozwoju osobników.

8. Koncentracja $H^{\cdot}$. Niewątpliwie wiele wyników dawniejszych prac wymagałoby korektury ze względu na niemożność dawniej dokładnego kontrolowania P_H użytych pożywek. W początkach naszej pracy mieliśmy sami dużo trudności utrzymania we wszystkich hodowlach jednakowego P_H, i straciliśmy wiele czasu na znalezienie prostego środka, regulującego P_H a nieszkodliwego. Zamiast przedstawiać ciernistą drogę starań o wybuforowanie równomierne pożywek, podamy tylko wynik ostateczny, przedtem jednak przedstawimy w tabl. IV wymagania szczepów przez nas w tych doświadczeniach używanych. Chcąc uchwycić i drobniejsze różnice działania P_H nale-

żało użyć pożywki możliwie sprzyjającej, ale równocześnie zawierającej jaknajmniej substancyj buforujących. Osiągnęliśmy to przez dodanie na 100 cm^3 pożywki standartowej, w której $CaCO_3$ zastąpiliśmy odpowiednią ilością $CaSO_4$, po 5 cm^3 bardzo czynnego wywaru ziemnego, zawierającego w tej ilości 1·56 *mg* substancyj mineralnych i 3·39 *mg* substancji organicznej. Skalę P_H przeprowadziliśmy przy użyciu H_2SO_4 względnie NaOH. Wynik zestawiony w tabl. IV wykazuje, że opt. było przy P_H 8·21, a skala P_H, umożliwiająca rozwój i wiązanie azotu, między mniejwięcej 6 a 9·5, co zgodne jest z danemi literatury.

Dodać do powyższych wyników należy, że *azotobakter* sam praktycznie nie zmienia wcale P_H pożywki, w której się rozwija. W naszej pożywce największe odchylenie od P_H początkowego nie przekraczało P_H 0·10. Na podstawie powyższego doświadczenia niestosowaliśmy w przyszłości żadnych już regulatorów P_H, gdyż dodanie do naszych pożywek 20 *mg* — w niektórych wypadkach 10 i nawet 100 *mg* (zwłaszcza w hodowlach mieszanych) $CaCO_3$ jaknajdrobniejszego, w dostatecznej mierze utrzymywało P_H pożywek w pobliżu P_H 8·00, z maleńkiemi wahaniami wzwyż i wdół.

9. Oznaczenie azotu. Likwidowanie hodowli odbywało się zawsze przez dodanie do każdej kolby 10 względnie, czasami, 15 cm^3 H_2SO_4 puriss. 1·84. Spalanie, według Kjeldahla, bez dodatku jakichkolwiek katalizatorów przeprowadzaliśmy zawsze w tych samych kolbach, w których odbywały się hodowle. Na podstawie licznych prób uznaliśmy ten sposób za najodpowiedniejszy. Wszelkie przelewanie zawartości hodowli, spłukiwania wówczas niezbędne itd. zawsze prowadzą do utraty choć drobnych ilości mającego być spalaniu podanemu materjału, przez spłukiwania następuje zbyteczne powiększanie ilości płynu i wprowadzanie równocześnie cośkolwiek związków azotu. Kłopotliwe usuwanie nieraz uporczywie przylegającego do ścian kolb śluzu azotobakterowego przy spalaniu w tem samem naczyniu odpada zupełnie. Ślepe oznaczenia *N* nie wykazywały w użytych odczynnikach go nigdy. Oczywista, że ten sposób określenia wyników uniemożliwiał całkowicie kontrolę ilości użytego cukru. Jednak, w tych doświadczeniach, które będziemy referowali — byłoby to i nieistotne, tembardziej, że jak stwierdziliśmy w osobnych doświadczeniach, nie ma równoległości między ilością zużytego cukru a ilością związanego azotu, na co zresztą już i Prażmowski (p. 927) zwrócił uwagę. Poza tem, wielokrotnie, w początkach z pewnem zdziwieniem, stwierdziliśmy, iż nie ma również żadnej ściślejszej zależności między ilością związanego w jakiejś hodowli azotu a bujnością rozwoju ocenianej „na oko“ danej hodowli. Zwłaszcza w niektórych pożywkach *azoto-*

bakter rozwijał się „na oko“ niezwykle obficie, przekształcając cały płyn pożywki w gęstą, prawie półstałą śluzowatą masę, a tymczasem analizy wykazały stosunkowo małe ilości azotu, gdy odwrotnie, kiedy nieraz „na oko“ wegetacji *azotobaktera* bynajmniej nie można było nazwać bujną, hodowla taka zawierała duże ilości azotu.

W następstwie podawać będziemy ilość azotu *netto*, więc zawsze już po odjęciu azotu zawartego w kontrolach. Każdą pożywkę badano zwykle w 4^0, czasem 3 lub 5^0 krotnem powtórzeniu, dodając po 3 względnie 2 kontrole (nieszczepione).

Znak — w tabelach oznacza, że doświadczenia nie dokonano lub że przepadło. Tą drogą pragnęliśmy osiągnąć jaknajwiększą pewność wyników.

Sterylizowaliśmy zawsze 3-krotnie przy 100^0 C, nigdy w autoklawie.

Przejdziemy teraz do przedstawienia wyników doświadczeń, prze prowadzonych dla wyświetlenia wyłonionych w poprzedzającym szkicu historycznym zagadnień.

3. Doświadczenia i wyniki.

Przystępując do omówienia naszych doświadczeń zaznaczamy, że znacznej części wstępnych doświadczeń, zwłaszcza z lat 1926 i 1927 podawać wogóle nie będziemy, gdyż rezultat ich przedstawiła właściwie już p. F. Kotkówna. Pracując równolegle, doświadczenia jej i nasze różniły się tylko w szczegółach, a nie w ich ułożeniu. P. Kotkówna, zakańczając swą pracę już w lecie 1928, operowała innemi szczepami *azotobaktera*, wyhodowanemi przez nią samą, i używała odmiennych, co do koncentracji zwłaszcza, pożywek, złożonych poza tem z chemikalij innej handlowej jakości; poza tem posługiwała się prawie zawsze wodą wodociągową, podczas gdyś my używali jej raczej wyjątkowo. Wobec tego jej „zasadnicza pożywka“ była znacznie „lepszą“ niż nasza — i, zgodnie z tem, — ilości związanego azotu na jej standartowej pożywce były znacznie większe niż na naszej. Na niej otrzymywaliśmy zwykle, coprawda z innemi szczepami (choć dla porównania zbadaliśmy także i 2 z jej szczepów) 0·14—0·60 *mg N*, a przy użyciu wody wodociągowej rzadko więcej niż 1 *mg*, kiedy Kotkówna przy mniejszej koncentracji cukru w jej pożywkach (1%) otrzymywała ze 100 cm^3 pożywki około 2 *mg* azotu, przekraczając nawet w większości wypadków tą cyfrę znacznie. Za to każdy dodatek do naszej standartowej pożywki objawiał się znacznie jaskrawiej, o ile nie był zupełnie obojętnym dla *azotobaktera*. Tego rodzaju równoległa a w wynikach niezależna praca posiada dużo uroku i wzmacnia poczucie pewności.

1. Ekstrakty ziemne.

Z licznych doświadczeń przeprowadzonych celem zbadania natury czynników gleby działających tak korzystnie na wiązanie azotu przez *azotobaktera*, przytoczymy tu tylko 4, zapomocą których staraliśmy się wyświetlić:

a) wpływ temperatury na skuteczność ekstraktów glebowych,

b) charakter grupowy, jaknajogólniejszy, tych czynników i

c) zależność ich „aktywności“ od reakcji w czasie ich ekstrahowania.

a) Wpływ temperatury.

Że dodatek gleby do hodowli *azotobaktera* skuteczniej wpływa na jego działalność niż ekstrakt tej samej gleby, wiadomo od dawna (por. też Kotkówna, p. 58 tabl. XIV). Przyczyną tego zjawiska jest może to, że albo nie wszystkie ciała czynne przeszły z gleby do ekstraktu, należałoby zatem ekstrahowanie gleby wielokrotnie powtarzać, albo że przy temperaturze ekstrahowania ulegają zniszczeniu lub ulatniają się jakieś ciała czynne, lub wreszcie, że pod wpływem temperatury wrzenia wody albo wyższej powstają ciała szkodliwe. Działanie wyższej temperatury przy ekstrahowaniu przez autoklawowanie przy 3 atmosferach przytacza Kotkówna (str. 59, tabl. XV), nie będziemy zatem tutaj reprodukować naszych wyników, a zaznaczamy tylko, że były one jeszcze jaskrawsze, zapewne dlatego, że autoklawowaliśmy przez 3 *h* a nie przez 1, jak ona. (*Nb.*: Löhnis w swej recepcie na przyrządzanie ekstraktu glebowego właśnie nakazuje autoklawowanie!). Kwestją nieprzejścia z gleby do ekstraktu całości czynnych ciał uważamy obecnie już za tak oczywistą, że i wyników odnoszących się do skuteczności kolejnych ekstraktów wodnych tej samej porcji gleby nie podajemy, zaznaczając tylko, że i 10-ty ekstrakt glebowy okazał się jeszcze czynnym jakkolwiek w znacznie słabszym stopniu niż frakcje pierwsze. Wobec powyższego uważamy, że zachowanie stałej proporcji między ilością gleby a ilością użytej do ekstrahowania wody czy jakiegokolwiek innego rozpuszczalnika jest koniecznem; w konsekwencji powyższego używaliśmy zawsze przy przygotowywaniu ekstraktów glebowych 2 części wody destylowanej na 1 część gleby, sącząc do zupełnej klarowności. Poza tem dodajemy, że zawsze, po zalaniu gleby wodą i po silnem jej wstrząśnięciu pozostawialiśmy ją przez 24 *h* w t^0 pokojowej, a gotowanie jej lub sączenie bez uprzedniego gotowania („ekstrakt na zimno“) odbywało się dopiero po tych 24 *h*. Po klarownem odsączeniu ekstraktów przez starannie wymyte sączki określaliśmy P_H ekstraktu.

Poniżej, w tab. VI przedstawimy działanie temperatury 100° C na skuteczność ekstraktów różnych gleb w porównaniu z ekstraktami, które otrzymano tylko „na zimno". Ilość ciał, które w obu wypadkach przeszły do ekstraktu, podaje tabl. V w $^0/_0$ ekstraktów, których użyto po 250 cm^3 do tych oznaczeń.

Tabela V.

Wpływ ekstrahowania gleby na gorąco i zimno.
(Wirkung heisser u. kalter Bodenextrahierung)

	Na gorąco (gotow.) heisse Extraction		Na zimno kalte Extraction	
	Such. subst. (Trockensubst.) %	popiół (Asche) %	Such. subst. (Trockensubst.) %	popiół (Asche) %
1. Ziemia kompostowa (Komposterde)	0·1227	0·0781	0·0762	0·0341
2. Ziemia ogrodowa piaszczysta (Sandige Gartenerde)	0·0678	0·0313	0 0400	0·0210
3. Piaszczysta ubog. ziemia leśna (Armer, hum-sand. Waldboden)	0·1750	0·0400	0·0720	0·0330
4. Gliniasta urodzajna orna (Lehmiger fruchtb. Ackerb.)	0·0298	0·8185	0·0360!	0·0280!
5. Glina garncarska, surowa (Roher Töpferlehm)	0·0191	0 0161	0·0189	0·0166

Z tab. VI wynika, że ekstrakty użyte wogóle były słabo czynne. Pozatem okazuje się, że ilość substancyj stałych przechodzących z gleby do rozczynu, nie jest proporcjonalną do skuteczności ich, a zależną jest przedewszystkiem od natury tych substancyj. Ekstrakt z gleby leśnej, gotowany, zawierał blisko 3 × ilość suchej substancji co ekstrakt gotowany z ziemi ogrodowej, a 6 ×, co ekstrakt gleby gliniastej. Skuteczność zaś jego na wiązanie azotu była słabsza niż ziemi ogrodowej a mniejwięcej tylko równa ekstraktowi z gliny. Jeszcze jaskrawiej objawia się ta dysproporcjonalność przy porównaniu działania urodzajnej gliny i gliny garncarskiej, której ekstrakt wogóle bardzo słabo tylko działał. Z porównania skuteczności ekstraktów „na gorąco" i „na zimno" wynika, że ekstrakty „na zimno" działają, użyte w równej ilości co „na gorąco", naogół słabiej. Jeżeli jednak działanie ich mierzylibyśmy nie objętością płynu a ilością w nich zawartych substancyj stałych, tak organicznych jak mineralnych, to należy przyznać, że skuteczność ekstraktów „na zimno" jest większa niż „na gorąco"; ekstrakty te bowiem zawierały, z wyjątkiem gliny uprawnej, znacznie mniej stałych substancyj niż ekstrakty

Azotobacter P_3 26—28° C. **Tabela VI.** 14 dni (Tage). 7. V. 27.

Ekstrakty z różnych gleb. (Extrakte aus verschiedenen Böden).
Przybytek *N* — (Gewinn) *mg*

Ilości ekstraktów (Extraktmenge)	50 *cm*³	25 *cm*³	10 *cm*³	5 *cm*³	H_2O font.	H_2O dest.
1. Ziemia kompostowa (Komposterde)						
a) gotowana (gekocht)	12·8 ± 0·7	7·4 ± 0·45	4·4 ± 0·36	4·5 ± 0·42	1·14 ± 0·28	0·41 ± 0·12
b) niegotowana (ungekocht)	7·4 ± 0·35	4·9 ± 0·5	4·2 ± 0·3	—	—	—
2. Ziemia ogrodowa (Gartenerde)						
a) gotowana (gekocht)	9·6 ± 1·1	8·2 ± 0·45	6·5 ± 0·26	4·6 ± 0·34	—	—
b) niegotowana (ungekocht)	8·2 ± 0·4	6·3 ± 0·7	—	4·6 ± 0·30	—	—
3. Ziemia leśna uboga (Arme Walderde)						
a) gotowana (gekocht)	5·3 ± 0·65	3·4 ± 0·52	4·0 ± 0·17	2·4 ± 0·19	—	—
b) niegotowana (ungekocht)	7·8 ± 0·36	5·7 ± 0·23	—	—	—	—
4. Ziemia glin. urodz. (Fruchtb. Lehmb.)						
a) gotowana (gekocht)	5·5 ± 0·16	5·7 ± 0·14	—	—	—	—
b) niegotowana (ungekocht)	6·4 ± 0·24	5·9 ± 0·32	4·0 ± 0·28	—	—	—
5. Glina garncarska (Roher Töpferlehm)						
a) gotowana (gekocht)	1·96 ± 0·14	1·5 ± 0·27	1·43 ± 0·1	1·16 ± 0·1	—	—
b) niegotowana (ungekocht)	2·86 ± 0·16	2·08 ± 0·14	—	1·56 ± 0·08	—	—

„na gorąco“, a mimo to skuteczność ich nie była słabsza w tym samym stosunku.

Większą zawartość stałych substancji w ekstrakcie „na zimno“ z uprawnej gliny tłomaczymy sobie strąceniem przez temperaturę (Hitzekoagulation) jej kolloidów, głównie nieorganicznych, na co wskazuje również blisko równa zawartość suchej substancji ekstraktów z gliny garncarskiej. Kompost, ziemia ogrodowa i leśna, jako piaszczyste, zawierały natomiast dużo substancyj organicznych, co wynika z różnic między ilością całkowitej suchej substancji a ilością popiołów i oddały do wody podczas gotowania więcej swych ciał

stałych niż „na zimno“. Być też może, że wobec temperatury 100° obfitsze składniki organiczne tych gleb działały jako substancje czy kolloidy „ochronne“ w stosunku do ciał mineralnych.

Wniosek ogólny dający się wyprowadzić z powyższych doświadczeń jest ten, że temp. wrzącej wody w ciągu 1 *h* działająca osłabia skuteczność stałych ciał glebowych przechodzących do ekstraktu wodnego a wpływających korzystnie na wiązanie azotu przez *azotobaktera.*

b) Ogólny charakter grupowy ciał glebowych.

α) Zapomocą niniejszego doświadczenia pragnęliśmy rozstrzygnąć kwestję, do jakiej kategorji ciał należą te czynne substancje, znajdujące się w glebie, a zatem, czy są one natury organicznej czy mineralnej, stałe czy lotne, wrażliwe na wyższą temperaturę czy niewrażliwe. W tym celu posługiwaliśmy się ekstraktami z 3 gleb użytych w poprzedniem doświadczeniu, a mianowicie: piaszczystej ogrodowej, leśnej i uprawnej gliniastej.

Do doświadczeń użyliśmy: *a*) ekstraktów „na zimno“ jako takich, *b*) odpowiadające ilości such. subst. tych ekstraktów odparowanych w próżniowej suszarce przy 46—48°, *c*) popioły tych ekstraktów, *d*) destylaty ekstraktów i *e*) pozostałość podestylacyjną (destylowano przy 100°), wynoszącą mniej więcej $^1/_3$ objętości destylacji podanego ekstraktu. Wynik doświadczenia zawiera tab. VII.

Z rezultatów tego doświadczenia wynika, że charakter badanych ciał czynnych nie jest jednolity. Naogół największą aktywność wykazały ekstrakty, użyte jako takie. Działanie wszystkich innych postaci ekstraktów było naogół słabsze. Nawet odparowanie do sucha przy dość niskiej temp., bo 46—48°, wpłynęło niekorzystnie, skąd można wnioskować, że przy odparowywaniu do sucha część ciał czynnych uległa zniszczeniu lub się też ulotniła, lub ostatecznie, że powstały ciała hamujące aktywność innych. Za słusznością przypuszczenia, że słabsze działanie suchej substancji spowodowane zostało ulotnieniem się części ciał czynnych przemawia fakt, że wszędzie działały, jakkolwiek bardzo słabo, destylaty ekstraktów i że suma działania destylatów + pozostałości podestylacyjnej przewyższa, choć nieznacznie, działanie odparowanej suchej substancji. Szkoda, że nie poprowadziliśmy destylacji do sucha! Co do popiołów, to wykazały one wszędzie mniej więcej tę samą skuteczność co sucha substancja niespopielona.

Wnioski zatem ogólne, które z powyższego doświadczenia wyprowadzić można, dadzą się streścić następująco:

1. **Głównym** czynnikiem czynnym w ekstraktach glebowych „na zimno" są składniki **mineralne**, stałe.

2. Obok nich, w różnym stopniu w zależności od charakteru gleby, występują w ekstraktach glebowych ciała lotne, w większym

Tabela VII.

Azotobacter P_3. 27° C. 14 dni (Tage). 16. VII. 27.

Ziemia ogrodowa, leśna i urodzajna gliniasta. (Garten- Wald- u. fruchtbarer Lehmboden).

	Ekstrakt		Sucha subst. ekstraktu (Extrakttrockensubstanz)		Destylat ekstraktu (Extract-Destillat)		Pozostałość podestylac. (Destillationsrückstand)		Popiół z ekstraktu (Extraktasche)		H_2O	
	50 *cm*³	10 *cm*³	50 *cm*³	10 *cm*³	50 *cm*³	10 *cm*³	50 *cm*³	10 *cm*³	50 *cm*³	10 *cm*³	font.	dest.
	Przybytek *N* (Gewinn) *mg*											
1. Ziemia ogrod. (Gartenerde)	8·4 ± 0·42	4·9 ± 0·26	6·3 ± 0·34	4·6 ± 0·18	1·4 ± 0·14	1·2 ± 0·32	5·90 ± 0·26	4·20 ± 0·34	6·5 ± 0·16	4·6 ± 0·22	1·8 ± 0·26	0·52 ± 0
2. Ziemia leśna (Waldboden)	6·5 ± 0·3	5·3 ± 0·4	3·8 ± 0·72	4·3 ± 0·27	0·4 ± 0·2	0·6 ± 0·18	—	4·14 ± 0·26	7·9 ± 0·8	4·9 ± 0·3	—	—
3. Ziemia glin. (Lehmboden)	7·8 ± 0·32	—	5·8 ± 0·24	5·2 ± 0·44	0·44 ± 0·16	0·42 ± 0·18	6·7 ± 0·65	5·2 ± 0·36	6·8 ± 0.17	5·0 ± 0·23	—	—

odsetku całkowitej „aktywności" w urodzajnej glebie próchnicznej (około 20%) (ziemia ogrodowa), w słabszym stopniu w ubogiej glebie (około 10%) (leśna), a w najsłabszym w glebie gliniastej (około 8%). Lotne te ciała nie są związkami azotu, gdyż objawiłoby się to w kon-

trolach niezaszczepionych, kontrole zaś te wykazały tę samą ilość azotu co pożywka standartowa, mianowicie 0·14 *mg*.

β) Dla uzupełnienia odpowiedzi na pytanie, czy ciała czynne są wrażliwe na temperaturę wyższą czy nie, na co częściowo odpowiadają doświadczenia zawarte w tab. VIII, wykonano następujące doświadczenie: Ekstrakt „na zimno" z ziemi ogrodowej rozdzielono na 3 części, z których jedną autoklawowano przy 3 atm. przez 3 *h*, drugą gotowano na łaźni wodnej przez 1 *h*, trzecią zaś część przesączono przez świecę Chamberlanda do wysterylizowanego receptora. Te 3 porcje dodano w dwojakiej ilości do pożywek standartowych. Autoklawowany i gotowany ekstrakt sterylizowano po dodaniu do pożywki jak zwykle, chamberlandowany ekstrakt natomiast dodano do uprzednio już wysterylizowanej w kolbach pożywki, a więcej skoncentrowanej odpowiednio do ilości doprowadzonego ekstraktu. Wyniki zestawiono w tab. VIII.

Az. P_3. 27—28° C. **Tabela VIII.** 14 dni. 6. II. 29.

Ziemia ogrodowa. — (Gartenerde).
Ekstrakt „na zimno". — (Kalter Bodenextract).

	50 cm^3 ekstraktu	10 cm^3	H_2O dest.
	Przybytek *mg N* — (Gewinn)		
Niegotowany (Ungekocht)	18·32 ± 0·10	7·27 ± 0·48	0·65 ± 0·17
Gotowany (Gekocht)	7·94 ± 0·05	5·44 ± 0·03	
Autoklawowany (Im Autoclav 3 Atm. 3 *h*)	0	4·06 ± 0·90	

Z powyższej tab. wynika, że bardzo znaczna część „aktywności" ekstraktów glebowych polega na substancjach wrażliwych na t°. Uchodziło to dotąd naszej uwadze, gdyż normalnie stosuje się sterylizację po dodaniu już do niej ciał badanych na ich skuteczność. Doświadczenie powyższe przeprowadziliśmy raczej *contre coeur*, w imię raz już ustanowionej zasady, a bynajmniej nie w oczekiwaniu takich wyników, zwłaszcza, kiedy z doświadczeń podanych w tab. VII wywnioskowaliśmy, że głównemi czynnemi ciałami glebowemi są składniki ich mineralne. Wynik autoklawowania był narazie dla nas również nieoczekiwanym, gdyż przypuszczaliśmy, na podstawie poprzed-

nich doświadczeń, że czynność ciał mineralnych nie ulegnie pod wpływem temperatury stosowanej żadnej zmianie.

Zapewne tak jest i istotnie, a z różnicy szkodliwości autoklawowania ekstraktu w ilości 50 wzgl. 10 cm^3 można wnioskować, że ilość ciał szkodliwych czy trujących, powstałych podczas autoklawowania, była tak wielka, iż zniosła całkowicie korzystne działanie czynnych ciał mineralnych, przy użyciu zaś 10 cm^3 autoklawowanie obniżyło tylko skuteczność ekstraktu, nie niwecząc jej jednak całkowicie.

A zatem: „Aktywność“ gleby polega w znacznej mierze na zawartości jej w ciała wrażliwe na temperaturę, a rozpuszczalne w wodzie, w mniejszym zaś stopniu na stałych ciałach mineralnych.

c) Wpływ reakcji płynu ekstrahującego.

W wykonaniu zakreślonego sobie planu doświadczeń przystąpiliśmy do zbadania wpływu reakcji płynu ekstrahującego na czynne ciała glebowe. Wyniki jednak poprzedniego doświadczenia wpłynęły na całkowitą zmianę tak zakresu jak i szczegółów tego planu. Przeprowadziliśmy tylko jedno doświadczenie przy zastosowaniu bardzo łagodnych odchyleń ekstrahującej wody od reakcji obojętnej ze względu na przypuszczalny charakter wrażliwych na t^0 ciał. Zakwasiliśmy wodę kwasem siarkowym bardzo słabo, do P_H 5·89 (sama posiadała P_H 6·08) a ługiem sodowym do P_H 7·20 i 8·42. Toteż te tak słabe różnice w reakcji wody ekstrahującej nie odbiły się na ekstraktach prawie zupełnie, gdyż ekstrakty „kwaśny“ i „neutralny“ posiadały P_H 6·56 względnie 6·62, a ekstrakt „alkaliczny“ 7·18. Rozumie się, że ekstrahowaliśmy na zimno i dodawaliśmy do przesterylizowanych pożywek ekstrakty jałowo przesączone przez świece Chamberlanda. Użyto ziemi ogrodowej, tej samej, co w poprzednim doświadczeniu. Wyniki podaje tab. IX (str. 233).

Z powyższej tabelki wynika, że różnice w P_H ekstrahującej wody nie ujawniały się prawie wcale. Z działania różnych ilości ekstraktów możnaby wywnioskować, że w 50 cm^3 zawarta była taka ilość ciał czynnych, które spowodowanego efektu już przez 25 cm^3 więcej nie potęgowały, że natomiast przy dawkowaniu „węższem“, między 5 a 25 cm^3, byłaby się prawdopodobnie ujawniła pewna proporcjonalność między wysokością dawki ekstraktu, a efektem jej, proporcjonalność, której nie mogliśmy się doszukać w poprzednich doświadczeniach, operując bezwiednie już znacznie zdezaktywowanemi przez temperaturę ekstraktami.

Zreasumowane wyniki powyższych doświadczeń nad działaniem

Azotobacter P_3. 27° C. **Tabela IX.** 14 dni (Tage). 19. IX. 27.

Ziemia ogrodowa. — (Gartenerde).
Wpływ reakcji podczas ekstrahowania gleby.
(Einfluss der Reaktion während der Bodenextrahierung).

Ilość ekstraktu niegot. (Extractmenge ungekocht)	50 *cm*³	25 *cm*³	5 *cm*³	0 (H_2O font.)
	Przybytek *N* — (Gewinn) *mg*			
Kwaśny ekstrakt (P_H 5·89) (Saurer Bd-Extract)	18·3±0·41	16·56±0·14	3·7 *mg* ± 0·22	1·2 ± 0·16
Zasadowy ekstrakt (P_H 8·42) (Alkalischer Bd-Extract)	17·6±0·36	15 90±0·24	4·2 ± 0·28	
Neutralny ekstrakt (P_H 7·20) (Neutraler Bd-Extract)	19·1±0·46	16·32±0·18	4·17 ± 0·21	

gleby na wiązanie azotu przez *azotobaktera* są następujące: Badana przez nas gleba (bo tylko jedną, ogrodową, stosowaliśmy we wszystkich doświadczeniach) działa przez czynniki trojakiego rodzaju: 1) przez ciała wrażliwe na temperaturę, przyczem t° 100° w ciągu 1^h^ prawdopodobnie nie niszczy ich całkowicie, czyni to atoli t° = 144° C; 2) przez ciała mineralne nielotne, nadające ekstraktom gotowanym główną część ich skuteczności, i 3) przez ciała lotne, nadające nawet ekstraktom gotowanym kilka do kilkunastu $^0/_0$ ich skuteczności całkowitej.

Wnioski powyższe otwierają nowe a szerokie pole do dalszych badań.

2. Ekstrakty z organizmów.

Stosownie do ogólnego planu naszej pracy, a mianowicie zbadania działania takich czynników jak witaminy, bios i auximony na wiązanie azotu przez *azotobaktera*, przystąpiliśmy do tej grupy czynników.

a) Działanie bakterji „*z*",

Z badań Beijerincka wiadomem było, iż *azotobakter* w obecności pewnych bakteryj, nieuzdolnionych do wiązania azotu, wiąże ten pierwiastek w znacznym stopniu. Posiadaliśmy w naszej kolekcji bezsporową bakterję, od której udało nam się uwolnić jeden ze szczepów *azotobaktera* dopiero po długich wysiłkach. Bakterję tę prowadziliśmy pod laboratoryjną nazwą „*z*". Również p. Kotkówna posiadała swego „towarzysza", odmiennego od naszego „*z*", który molestował ją przez dobre 2 lata. Postanowiliśmy przeto zbadać wpływ tych

bakteryj na *azotobaktera*. Przeprowadziliśmy równolegle do doświadczeń p. Kotkówny nad jej „towarzyszem“ cały szereg doświadczeń orjentacyjnych nad działaniem bakterji „*z*“ na *azotobaktera*. Wobec jednak ogłoszonych już wyników p. Kotkówny, zestawionych w jej pracy w tab. XVI – XVIII i XXII, nie podamy naszych wyników z „*z*“, gdyż nie wyłoniły się żadne zasadnicze lub jakościowe różnice, różnice zaś ilościowe wywołane były niewątpliwie przez odmienny rodzaj pożywek i samych „towarzyszących“ bakteryj.

Z doświadczeń nad znaczeniem bakterji „*z*“ dla *azotobaktera* podamy tylko jedno, różniące się tem od opublikowanych doświadczeń Kotkówny (p. 66 tab. XXII), że dodano chamberlandowany przesącz do uprzednio już wysterylizowanej pożywki, tak że przesącz ta nie podległa, jak u Kotkówny, żadnej sterylizacji. 2. V. 1928 zaszczepiono 1 *l* H_2O dest. z 10 *g* cukru trzcinowego i 10 *mg* $(NH_4)_2HPO_4$ bakterją „*z*“ i po 3 dniach, kiedy pożywka silnie zmętniała, przesączono ją przez Chamberlanda i dodano do sterylizowanych pożywek standartowych, odpowiednio do zamierzonej ilości dodatku tej przesączy jałowej, zagęszczonych. Ponieważ bakterja „*z*“ zakwasiła swą pożywkę dość silnie, dodano uprzednio do każdej kolby po 50 *mg* $CaCO_3$ celem zneutralizowania kwaśnego przesącza i wyrównania reakcji między grupami o różnej dawce przesączu. Wyniki zawiera tab. X.

Azotobacter A. 26—28° C **Tabela X.** 17 dni (Tage). 5. V. 1928.

Wpływ chamberlandowanego przesączu bakterji „*z*“.
(Einfluss einer kerzenfiltrierten Kultur des *Bact.* „*z*“.

Ilość przesączu (Menge d. Kerzenfiltrats)	Przybytek *mg N* — (Gewinn)			
	90 *cm*³	50 *cm*³	10 *cm*³	0
Zaszczepiono (Beimpft mit)				
1. *Azotobakter* szczep *A* Stamm *A*	18·51 ± 0·46	13·10 ± 0 65	4 85 ± 0·32	1·18 ± 0·07
2. + „towarzysz“ „Genosse“ F. Kotek	28·58 ± 0·21	24·45 ± 0·92	6·34 ± 0·08	2·83 ± 0·10
8. + *Bact.* „*z*“	2·25 ± 0	1 56 ± 0·04	6·14 ± 0	2·94 ± 0·06

Z danych powyższej tab. (X) wnioskujemy, że bakterja „*z*“ wytwarza albo z niej powstaje jakieś ciało w bardzo silnym stopniu

stymulujące *azotobaktera*; stymulacja ta potęguje się jeszcze w obecności „towarzysza“ Kotkówny. Natomiast na *azotobaktera* w obecności „*z*“ ciało to nie wpływa prawie wcale, o ile jest obecne w większej ilości (90 i 50 cm^3 na 100). W mniejszych ilościach (10 na 100) natomiast stymuluje *azotobaktera* podobnie jak to czyni w stosunku do samego tylko *azotobaktera* lub znajdującego się wespół z „towarzyszem“. Poza tem obecność „*z*“ wpływa w pożywce standartowej tak korzystnie (choć słabo) na *azotobaktera* jak czyni to „towarzysz“ Kotkówny. Wyniki te są trudne do wytłumaczenia. W toku dalszych badań sprawa oddziaływania bakterji „*z*“ na *azotobaktera* skomplikowała się do tego stopnia, iż rezygnujemy z przytoczenia tych wyników, których do dziś w zadawalniający sposób interpretować nie potrafimy.

Pragnęlibyśmy tu tylko króciutko wspomnieć, dla zachowania ewentualnego priorytetu, że przesącze chamberlandowanej hodowli tej bakterji na wodzie destylowanej z $1^0/_0$ cukru trzcinowego, 5 *mg* $(NH_4)_2\,HPO_4$ i 5 *mg* $K_2\,HP_4$ dawały, poza innemi komplikacjami, nawet po spopieleniu ich wyraźne efekty stymulujące *azotobaktera*, kiedy przesącze o identycznym składzie analitycznym, niezaszczepione bakterją „*z*“, zupełnie żadnych nie wykazywały działań.

Przejdziemy zatem lepiej do zreferowania doświadczeń z ekstraktami drożdży, których wyniki przedstawiają się w interpretacji ich daleko prościej i jaśniej.

b) Działanie ekstraktów drożdżowych.

W grupie tych doświadczeń postępowaliśmy zawsze następująco: 250 *gr* świeżych drożdży piekarskich zalewaliśmy pod toluolem 2 litrami wody destylowanej, niekiedy słabo zakwaszonej lub zalkalizowanej. Po silnem wstrząśnięciu i wymięszaniu suspensji tej wstawialiśmy ją na 24—48 *h* do termostatu przy 28^0 C, poczem sączyliśmy zawsze przez Chamberlanda. Ekstrakty w ten sposób otrzymywane dodawaliśmy jako jałowe-niegotowane, gotowane, autoklawowane i spopielane w różnych ilościach do standartowej pożywki dla *azotobaktera*. Poniższe tab. XII—XV zawierają wyniki.

Do doświadczeń, których wyniki podaje tab. XI, użyto dwu przesączy, *a* i *b*, różniących się między sobą tylko stopniem reakcji. *a* przez zakwaszenie ekstrahującej wody miał P_H 4·85, *b* zaś P_H 8·50.

Powyższe wyniki wykazują, że w drożdżach autolizowanych zawarte są w stosunku do *azotobaktera* wysoce czynne ciała, które przy kwaśnej reakcji są wrażliwsze na działanie temperatury $= 100^0$ niż przy reakcji zasadowej; t^0 100^0 C prawie wcale w słabszych

Azotobacter P_3 26 °C

Tabela XI.

9 i 10 dni (Tage). *a)* 30. XI. 27.
b) 10. III. 28.

Ekstrakt z drożdży. — (Hefenextract).

Ilość ekstraktu (Extractmenge)	90%	50%	10%	0 H_2O font.
a) PH 4·85				
1h Gotowany (Gekocht)				
N przybytek (Gewinn) — *mg*	3·3 ± 0·85	7·6 ± 0·40	5·2 ± 0·60	1·2 ± 0·2
Niegotowany (Ungekocht)				
N przybytek (Gewinn) — *mg*	16·3 ± 0·84	11·4 ± 0·63	7·2 ± 0·28	
b) PH 8·50				
1h Gotowany (Gekocht)				
N przybytek (Gewinn) — *mg*	4·7 ± 0·65	10·9 ± 0·82	10·3 ± 0·45	1·3 ± 0·15
Niegotowany (Ungekocht)				
N przybytek (Gewinn) — *mg*	13 2 ± 0·26	12·8 ± 0·65	10·0 ± 0·58	

koncentracjach zasadowych ekstraktów nie osłabia skuteczności tych ciał.

Doświadczenie następne wykonano z ekstraktem drożdży otrzymanym przez działanie neutralną wodą destylowaną. PH ekstraktu Chamberlandowanego = 6·90. Zawartość suchej substancji tego ekstraktu wynosiła 0·129%, popiołu zaś 0·051%. Doświadczenie wykonano z różnemi ilościami ekstraktów w stanie niegotowanym, gotowanym, autoklawowanym i spopielonym. Wyniki tego doświadczenia przedstawiono w tab. XII (str. 237).

Wyniki powyższe dają w całości obraz podobny, jak wyniki z ekstraktem glebowym, zawarte w tab. VIII. Ekstrakt niegotowany daje, zwłaszcza w większych koncentracjach, znacznie lepsze wyniki niż ekstrakt gotowany, ekstrakt zaś autoklawowany, w dużej koncentracji (90% ekstraktu) działa bardzo szkodliwie, w mniejszych koncentracjach działa jak ekstrakt gotowany. Popiół działa wszędzie tak samo jak ekstrakt gotowany.

Wyprowadzamy z doświadczenia powyższego następujące wnioski: 1) Czynnik, wrażliwy na temperaturę 100° C znajduje się w ekstrakcie w tak nieznacznej ilości, że zwiększanie koncentracji ekstraktu objawiało się zupełnie wyraźnie w przyroście *N* związanego. Jest on pozatem bardzo wrażliwy nietylko na t°, ale zapewne również na drobne

Azotobacter P_3. 27° C. **Tabela XII.** 17 dni (Tage). 12. VI. 28.

Ekstrakt z drożdży. — (Hefenextract).

Ilość ekstraktu (Extractmenge)	90%	50%	25%	5%	0 H_2O font.
Niegotowany — (Ungekocht)					
N przybytek (Gewinn) — *mg*	18·3 ± 0·95	13·7 ± 0·65	7·4 ± 0·50	7·3 ± 0·75	1·3 ± 0·1
1h Gotowany przy (Gekocht bei) 100° C					
N przybytek — (Gewinn) *mg*	7·9 ± 0·42	8·2 ± 0·36	7·3 ± 0·24	4·4 ± 0·30	
3h Autoklawany przy (Gekocht bei) 144° C					
N przybytek — (Gewinn) *mg*	0	6·5 ± 0·55	6·9 ± 0·32	4·0 ± 0·24	
Popiół ekstraktowy (Extractasche) *mg*	45·9	25·5	12·75	2·55	
N przybytek (Gewinn) — *mg*	7·4 ± 1·2	6·9 ± 0·16	6·1 ± 0·35	4·9 ± 0·8	

wahania P_H. Niedziałanie jego w grupie kolb z 25 cm^3 ekstraktu tłomaczymy sobie bowiem tym faktem, że pożywka w nich, przy określaniu P_H tuż przed ich likwidacją wykazała — z niewiadomych nam przyczyn, najniższe z pośród wszzstkich P_H. Kiedy we wszystkich innych kolbach P_H wahało się niewiele wokoło 8·0, w tej grupie wynosiło ono 7·23 do 7·44; bardzo więc być może, że to P_H było już szkodliwe dla czynnika — w tym środowisku — (więc w naszej pożywce sztandartowej) w jakiem się znajdował. 2) Czynnikiem drugim, aktywującym wiązanie *N* przez *azotobaktera*, jest czynnik nielotny, a jak serja z popiołami wykazuje, natury mineralnej. llość jego w ekstrakcie użytym była stosunkowo większa, niż czynnika wrażliwego na temperaturę, gdyż różnice działania jego w obrębie bardzo znacznych granic koncencentracyjnych (od 5—90 cm^3) wahają się bardzo mało, a od 25 do 90 cm^3 ekstraktu wcale. Znaczy to, że ilość jego, zawarta w 25 cm^3 wystarcza do spowodowania optymalnego jego w warunkach badanych efektu, a dopiero zmniejszenie jego koncentracji 5-krotne (w 5 cm^3 ekstraktu) wyraża się nieznacznym obniżeniem jego działania.

Dalsze badania odsłoniły nam ogromne trudności przy próbach systematycznego prześledzenia działania ekstraktów z drożdży. Następne poniżej podane doświadczenie przeprowadziliśmy w sposób identyczny, tylko z tą różnicą, że odpadła grupa kolb z ekstraktem autoklawo-

wanym na którego miejsce weszła grupa z suchą substancją ekstraktu odparowanego przy 50° C. Pozatem drożdże piekarskie były poddane autolizie tylko przez 24^h, a nie przez 48^h, jak w doświadczeniu poprzedniem. Wynik doświadczenia obrazuje tab. XIII.

Azotobacter A. 27° C. **Tabela XIII.** 12 dni (Tage). 6. VII. 28.

Ekstrakty z drożdży. — (Hefenextracte).

	Przybytek *N* (Gewinn) — *mg*			
	50 *cm³*	25 *cm³*	5 *cm³*	0
Niegotowany (Ungekocht)	7·96 ± 0·42	7·11 ± 0·21	5·42 ± 0·36	H_2O font. 1·07 ± 0·24
1^h Gotowany (Gekocht)	3·33 ± 0·82	4·11 ± 0·76	4·24 ± 0·31	H_2O dest. 0·32 ± 0·03
Sucha subst. (Extract-Trockensubst.)	2·92 ± 0·40	3·19 ± 0·32	2·99 ± 0·38	
Popiół z ekstraktu (Extractasche)	4·13 ± 0·16	3·91 ± 0·18	2·74 ± 0·16	

Z wyników powyższych wnioskujemy, że 1) autoliza 24-o godzinna daje słabsze wyniki niż autoliza przez 48^h, jak w doświadczeniu poprzedniem, gdyż działanie tutaj użytego ekstraktu było słabsze, niż w doświadczeniu poprzedniem. Krótsza autoliza obniżyła nietylko działanie czynnika wrażliwego na t^0, ale również i czynnika nielotnego, mineralnego, jakkolwiek obniżenie działania czynnika wrażliwego na t^0, jest silniejsze niż obniżenie mineralnego. 2) Odparowywanie ekstraktu w suszarce próżniowej przy 50° C działa szkodliwie; tym sposobem otrzymana sucha substancja ekstraktu dała wszędzie gorsze wyniki niż ekstrakt gotowany, i gorsze nawet wyniki, niż jej popiół; nie może to być z powodu ulotnienia się podczas odparowywania jakiegoś aktywnego czynnika lotnego, albowiem popiół działał lepiej, a tylko z powodu powstania jakiejś substancji szkodliwej. W rezultacie i to doświadczenie nakazuje dalsze badanie tych stosunków.

W ostatniem doświadczeniu tej grupy, w tab. XIV przedstawimy wyniki wpływu reakcji wody ekstrahującej. Do suspensji z wodą destylowaną dodawaliśmy kroplami NaOH dla zneutralizowania wzgl. zalkalizowania suspensji, poczem autolizowaliśmy przez 48^h. W tab. XIV podamy wyłącznie wyniki odnoszące się do działania popiołów tych ekstraktów.

Azotobacter A. 26° C. **Tabela XIV.** 15 dni (Tage). 26. X. 28

Popioły ekstraktów z drożdży. (Aschen von Hefeextracten).

Ekstrakt w / in 100 cm^3 zawiera popiołu (enthält Asche)	*N* = P_H 7·18 36 *mg*	A = P_H 8·38 88 *mg*	K = P_H 6·32 26 *mg*	H_2O font
Dano popiołu (Aschenzusatz) *mg*	33·0	79·3	23·4	—
N przybytek (Gewinn) *mg*	10·9 ± 0·64	8·8 ± 0·91	12·2 ± 0·52	0·64 ± 0·16
Popiołu (Aschengabe) — *mg*	18·0	44·0	13·0	—
N przybytek (Gewinn) *mg*	4·0 ± 0·14	5·1 ± 0·65	7·8 ± 0·24	— —
Popiołu (Aschengabe) — *mg*	9·0	22·0	6·5	—
N przybytek (Gewinn) *mg*	4·2 ± 0 62	5·2 ± 0·41	3·6 ± 0·16	— —
popiołu (Aschengabe) — *mg*	1·8	4·4	1·3	—
N przybytek (Gewinn) *mg*	3·1 ± 0·80	2·3 ± 0·17	3·8 ± 0·22	— —

Wniosek ogólny wyprowadzamy z powyższego doświadczenia ten: dodatek ługu sodowego do suspensji drożdży — dla autolizowania ich przy reakcji neutralnej i alkalicznej — odbił się raczej szkodliwie na działaniu popiołów. Przeszło 3-krotna ilość popiołu z ekstraktu zalkalizowanego działała gorzej, niż popiół z ekstraktu kwaśnego (naturalnego), a szkodliwość dodatku Na OH objawiała się na popiołach z tych ekstraktów, użytych w mniejszych koncentracjach, jeszcze szkodliwiej. Należało było raczej próbować ewtl. zwiększenia działania popiołu w ekstraktach przez zakwaszanie autolizowanych drożdży, celem możliwego powiększenia ilości do ekstraktu przechodzących składników popiołowych drożdży. Pozatem bardzo słabo tylko objawia się działanie popiołu w zależności od jego ilości, nawet na popiele z ekstraktu „naturalnego“ (w tab. XV — „kwaśnego“). Ilość związanego *N* przy 1·3 *mg* popiołu (z 5 cm^3 ekstraktu) jest ta sama co na 6·5 *mg* (z 25 cm^3 ekstraktu), a wzrasta dopiero proporcjonalnie przy następnej dawce (13 *mg* popiołu z 50 cm^3 ekstraktu), z czego wynika, że i działanie popiołu ekstraktów nie jest prostą funkcją a komplikowaną wpływem czynników przez nas jeszcze nie opanowanych. [1])

---

[1]) Niestety, przy likwidacji tego doświadczenia, nie określiliśmy P_H poszczególnych hodowli. Być może, że dodatek 88 *mg* popiołu (z 90 cm^3 ekstraktu zalkali-

Na tem narazie zakończymy referowanie naszych doświadczeń odnoszących się do badania wpływu ekstraktów z drożdży. Wynik ogólny tych doświadczeń jest na ogół ten sam, co doświadczeń z ekstraktami z ziemi ogrodowej. I w nich działają głównie 2 czynniki: jeden wrażliwy na t^0 i drugi nielotny mineralny.

c) Działanie ekstraktów zwierzęcych.

W tej grupie doświadczeń podamy wyniki tylko jednego doświadczenia, przeprowadzonego z ekstraktami wodnemi i eterowemi kilku organów bydlęcych, otrzymanych od śp. prof. Szymona Dzierzgowskiego w lutym 1927. Dokładnych danych co do sposobu spreparowania tych ekstraktów niestety nie posiadamy. Część ekstraktów wodnych spopieliliśmy, a do grupy doświadczeń z ekstraktami eterowemi wprowadziliśmy — dla porównania — oczyszczoną lecytynę. Ekstrakty pochodziły ze śledziony, *ex utero, ovario* i *testiculis.* Ekstraktów tych daliśmy po 5 kropli i tyleż popiołu na 100 cm^3 pożywki. Wyniki podaje tab. XV (str. 241).

Wszystkie ekstrakty zawierały więc czynniki aktywujące działalność *azotobaktera,* tak wodne jak eterowe. Działanie wodnych ekstraktów przewyższało działanie eterowych prawie w dwójnasób; zdaje się być pewnem, że działanie to polega prawie wyłącznie na działaniu składników mineralnych, gdyż popioły ekstraktów tych dały wyniki tylko mało słabsze niż ekstrakty wodne; ekstrakty eterowe zaś działały prawdopodobnie tylko dla tego słabiej, że zawierały mniej popiołu. Różnice w działaniu poszczególnych ekstraktów były nieznaczne, a ich działanie, wobec maleńkich dawek, było bardzo znaczne.

Następna tab. XVI (str. 242) zawiera wyniki doświadczenia nad działaniem ekstraktów roślinnych. Podamy tutaj tylko rezultaty osiągnięte z ekstraktami z koleoptil i korzonków pszenicy, żyta i jęczmienia. Postępowaliśmy w ten sposób, że 100 *g* świeżych koleoptil względnie mniejwięcej 2 *cm* długich korzonków roślin, wykiełkowanych w wodzie destylowanej, rozstarliśmy w misce porcelanowej, dodając stopniowo wody destylowanej (ze szkła, jak zawsze), tak że w całości dodano na 100 *g* substancji roślinnej świeżej 600 *g* H_2O. Suspensje przesączyliśmy przez Chamberlanda, część dolali do sterylizowa-

zowanego) działał szkodliwie przez samo nadmierne podwyższenie PH. Że jednak to przypuszczenie nie jest bardzo prawdopodobne, na to wskazywałyby wyniki grupy popiołu z 50 cm^3 ekstraktu, gdzie popiół ekstraktu „neutralnego", prawie w tej samej ilości co popiół z ekstraktu „kwaśnego" = naturalnego, działał znacznie słabiej, niż popiół ekstraktu naturalnego.

Azotobacter A i *C*. 26⁰ C. **Tabela XV.** 14 dni (Tage). *a)* 28. II. 27. *b)* 24. VII. 31.

Ekstrakty organów zwierzęcych. (Tierische Organextracte).

Po 5 kropli (Je 5 Tropfen)	Przybytek *N* (Gewinn) *mg*
A. Wodne ekstrakty (H_2O — Extracte)	
Śledziona — (Milz)	4 6 ± 0·30
Uterus	4·2 + 0 24
Ovarium	4·4 ± 0 28
Testes	4·6 ± 0·14
B. Eterowe ekstrakty (Äther-Extracte)	
Śledziona — (Milz)	2·4 ± 0·18
Uterus	2·6 ± 0 22
Ovarium	2·3 ± 0·34
Testes	2·6 ± 0·42
Lecithinum puriss.	2·3 ± 0·36
C. Popioły extraktów wodnych (Asche d. H_2O — Extracte)	
Śledziona — (Milz)	3·9 ± 0·18
Uterus	4·3 ± 0·28
Ovarium	4·1 ± 0·32
Testes	3·8 ± 0·22
H_2O font	1·06 ± 0·14

nych pożywek, część sterylizowaliśmy razem z pożywką, część odparowali w suszarce próżniowej przy 46⁰ C, część spopieliliśmy. Dla kontroli założyliśmy również hodowle z ekstraktami glebowemi tych gleb, z których pochodziły nasiona użyte do doświadczenia. Ekstraktów dodaliśmy wszędzie po 25 cm^3. Tab. XVI zestawia wyniki.

Z cyfr powyższych wynika, że ekstrakty wszystkich w tem doświadczeniu użytych roślin były czynne, najsilniej ekstrakty żyta, najsłabiej jęczmienia. Ekstrakty niegotowane były czynniejsze niż ekstrakty gotowane, sucha ich substancja lub popioły. Obraz więc ogólny podobny do tego, jaki wyłaniał się w doświadczeniach nad działaniem ekstraktów glebowych i drożdżowych. Uderza w tych doświadczeniach niezrozumiałe dla nas działanie słabe ekstraktów gotowanych i suchej substancji pszenicy (korzonków), a szkodliwość

Azotobacter C. 25° C. **Tabela XVI.** 14 dni (Tage). 9. XII. 29.

Ekstrakty ze zbóż. (Getreideextracte).

	Triticum vulg.		*Secale cer.*		*Hordeum dist.*	
	Koleoptile	Korzonki (Würzelchen)	Koleoptile	Korzonki (Würzelchen)	Koleoptile	Korzonki (Würzelchen)
	Przybytek *N* — (Gewinn) *mg*					
Niegotowany (Ungekocht)	6·2 ± 0·18	5·1 ± 0·19	18·7 ± 0·18	9 6 ± 0·26	—	—
Gotowany (Gekocht)	0	2·2 ± 0·20	11·2 ± 0·05	5·4 ± 0·06	1·1 ± 0·08	2·8 ± 0·10
Sucha subst. (Trockensubst.)	0	2·0 ± 0 20	10·9 ± 0·04	3·0 ± 0·16	1·3 ± 0·10	1·7 ± 0·18
Popiół (Asche)	2·6 ± 0·42	4·2 ± 0·36	12·71 ± 0·16	5·2 ± 0·28	—	3·4 ± 0·17
Odpowiedni ekstrakt ziemi (Entsprechender Bodenextract) 25 *cm*³	3·9 ± 0·16		6·2 ± 0·24		4·2 ± 0·46	
„ 10 *cm*³	2·7 ± 0·20		5·1 ± 0·42		3·9 ± 0·17	
Pożywka synt. (Synt. Nährlösung)	0·62 ± 0·0					

działania tych substancyj z koleoptil pszenicznych. Hodowle z niegotowanym ekstraktem koleoptil z korzeniami jęczmienia były zanieczyszczone, z popiołem przepadły. Jednak wyniki z jęczmieniem zdawałyby się wskazywać na to, że nie istnieje zależność czynności ekstraktów roślinnych od czynności takich ckstraktów z gleby, na której dane rośliny wyrosły, w odniesieniu do czynnika mineralnego. Jednakże ta sprawa jest wszak, jak zgóry przewidzieć można, tak skomplikowanej natury, że mogłyby wnieść może w te stosunki niecoś światła dalsze zgóry uplanowane doświadczenia.

Chcąc terminologicznie sprecyzować nazwę czynników, wrażliwych na temperaturę, a działających w ekstraktach niegotowanych czy to ziemi, drożdży czy roślin, użyliśmy preparatów z naukowo ustaloną nazwą „witamin“. Preparaty te, o nieznanym nam sposobie ich spreparowania, zawdzięczamy uprzejmości p. prof. L e l e s z a, pracującego wówczas w P. Instytucie Higjeny w Warszawie, który

nam tych preparatów łaskawie udzielił w czerwcu 1929. Niech nam wolno będzie na tem miejscu złożyć Mu nasze serdeczne podziękowanie. Preparaty te użyliśmy, z wyjątkiem t. zw. witaminy D, jako niegotowane, t. zn. po przesączeniu przez Chamberlanda dodaliśmy je do uprzednio wysterylizowanych pożywek; część preparatów spopieliliśmy. Preparat witaminy D, którego nie można było (był w tłuszczu) przesączyć, dodaliśmy do uprzednio wysterylizowanej pożywki, poczem pożywkę tę, po dodaniu tej witaminy D, jeszcze pasteryzowaliśmy przy 65° C czterokrotnie.

Wyniki zestawione są w tab. XVII.

Azotobacter C. 28° C. **Tabela XVII.** 14 dni (Tage). 23. VI. 29.

Witaminy. (Vitamine).

Witamina		1 cm^3		0·2 cm^3		1 kropla Tropfen		0
		prepar.	popiół (verascht)	prepar.	popiół (verascht)	prepar.	popiół	
B N — przybytek (Gewinn)	mg	3·82 ± 0·42	1·8 ± 0·24	5·8 ± 0·64	2·1 ± 0·36	4·3 ± 0·36	2·52 ± 0·12	0·63 ± 0·05
C_1 N — przybytek (Gewinn)	mg	6·6 ± 0·67	3·2 ± 0·70	4·3 ± 0·40	2·9 ± 0·18	4·3 ± 0·28	2·68 ± 0·20	
C_2 N — przybytek (Gewinn)	mg	6·8 ± 0·5	—	10·7 ± 0·36	6·3 ± 0·80	—	4·46 ± 0·45	
D N — przybytek (Gewinn)	mg	6·1 ± 0·9	—	3·5 ± 0·42	—	—	3·56 ± 0·26	

Widzimy, że wszystkie badane witaminy, B, dwa preparaty witaminy C (C_1 i C_2) i witamina D, były w silnym stopniu czynne, najczynniejsza witamina C_2, koloru zielonego, widocznie ekstrakt z jakichś liści. Zważywszy ilości tych preparatów (1 kropla do 1 cm^3 na 100 cm^3 pożywki), czynność tych preperatów w porównaniu z naszemi ekstraktami z różnych substancyj wzgl. organizmów była bardzo duża. Najciekawszym jest jednak fakt, że czynność preparatów witaminowych — w odniesieniu do *azotobaktera* — polega również na działaniu 2 grup ciał — czynnika prawdopodobnie wrażliwego na t° (u poszczególnych witamin znane, sami nie mogliśmy doświadczenia dla zbadania efektu sterylizowania tych preparatów prze-

prowadzić, nie posiadając ich w dostatecznej ilości) i czynnika mineralnego (popiół). Popioły wszystkich próbowanych witamin były czynne, w wit. C_2 i D (1 kropla!) szczególnie czynne.

Nie odważamy się jednakże wysunąć z powyższych doświadczeń najogólniejszego wniosku, a mianowicie, że działanie witamin (wit. A nie badaliśmy!), wogóle polega na skombinowanem działaniu jakiegoś czynnika mniej lub więcej wrażliwego na temperaturę, prawdopodobnie natury organicznej, i czynnika mineralnego.

Z wyników wszystkich poprzednio zreferowanych doświadczeń można wnioskować, że do działalności (wiązania azotu) *azotobaktera* niezbędne są jakieś czynniki mineralne i czynniki wrażliwe w różnym stopniu na temperaturę, noszące miano *auximonów* (ekstrakty gleby), „Wuchstoffe" czy „groeistoffen" w sensie W e n t'a, *bios* (w drożdżach, w sensie W i l d i e r'a) i witaminy (preparaty ich, ekstrakty drożdży, z których zwykle preparuje się witaminę B).

Wobec powyższego stanu rzeczy stanęliśmy przed zadaniem bliższego scharakteryzowania tych dwu działających czynników. Poniżej podamy wynik naszych orjentacyjnych w tej dziedzinie badań, odnoszących się do bliższego poznania czynnika mineralnego, która to kwestja wydaje się narazie łatwiejszą.

Punktem wyjścia do tych badań były wyniki jednego z naszych doświadczeń z roku 1928. Badaliśmy wówczas wpływ węgla krwi i innych kolloidalnych substancyj na działanie *azotobaktera*. Wyników tych licznych doświadczeń przytaczać nie będziemy, a tylko te, które uzyskano z węglem krwi, dodawanym w różnych ilościach do hodowli na zwykłej standartowej pożywce dla *azotobaktera* czy to w postaci jak najdrobniej zmielonego czy po spopieleniu go. Węgiel ten zawierał bardzo dużo, bo 18·3% popiołu.

Wyniki przedstawia tab. XVIII (str. 245).

Wynika z tej tabeli, że jedynie aktywnym czynnikiem w węglu krwi jest jego popiół, a nie inne substancje lub sam stan kolloidalny. Popiół, zwłaszcza w wyższych dawkach, działał nawet daleko lepiej niż węgiel, a zatem w węglu, może z powodu silnej ich absorbcji, składniki mineralne były częściowo unieruchomione. To doświadczenie zdawało się dawać i odpowiedź na pytanie co do natury chemicznej tego czynnika mineralnego: wszak głównym składnikiem mineralnym krwi jest ż e l a z o, nic więc dziwnego, że wówczas i my byliśmy przekonani, że działającym czynnikiem mineralnym we wszystkich naszych ekstraktach było żelazo. Wszak i z wszystkich dawniejszych prób scharakteryzowania tego czynnika często podawano (zwłaszcza R e m y i R ö s i n g, ale i K a s e r e r i częściowo P r a ż-

Azotobacter C. 26° C. **Tabela XVIII.** 14 dni (Tage). 12. XI. 29.

Działanie węgla z krwi i popiołu (18·3%).
(Wirkung von Blutkohle u. deren Asche (18·3%).
Przybytek *N* — (Gewinn) *mg*

5 *mg* węgla krwi (Blutkohle)	1·75 ± 0·15
0·91 *mg* popiołu (Kohlenasche)	2·00 ± 0·10
20 *mg* węgla krwi (Blutkohle)	2·64 ± 0·36
3·7 *mg* popiołu (Kohlenasche)	3·86 ± 0·14
100 *mg* węgla krwi (Blutkohle)	4·60 ± 0·52
18·3 *mg* popiołu (Kohlenasche)	8·35 ± 0·15
200 *mg* węgla krwi (Blutkohle)	6·64 ± 0·32
36·5 *mg* popiołu (Kohlenasche)	11·42 ± 0·14
H_2O font.	1·0 ± 0·2
H_2O bidest.	0·42 ± 0·08

mowski) (w innym związku i Olsen) Fe jako ten właśnie decydujący składnik próchnicowy. Dla upewnienia się co do słuszności tych poglądów przeprowadziliśmy doświadczenie, którego wyniki zestawiamy w tab. XIX.

Doświadczenie wykonaliśmy w ten sposób, że dodawaliśmy popiół jednego bardzo czynnego ekstraktu glebowego w ilościach odpowiadających 20 i 5 cm^3 tego ekstraktu z dodatkiem 2 dawek cytrynianu żelaza i bez tych dodatków jak i bez popiołu ekstraktu. Oczekiwaliśmy, że dodatek żelaza w słabszej dawce ekstraktowego popiołu (wiedzieliśmy z wstępnego doświadczenia, iż 5 cm^3 działa znacznie słabiej niż 20 cm^3 ekstraktu wzgl. odpowiadającego tym ilościom popiołu) podniesie skutek tej słabszej dawki do skutku dawki wyższej.

Wynik przedstawiony jest w poniższej tab. XIX (str. 246).

Wynik doświadczenia zniweczył całkowicie nasze oczekiwania. Dodatek Fe nietylko nie podniósł aktywności popiołu ekstraktów —

Azotobacter C. 28° C. **Tabela XIX.** 15 dni (Tage). 30. III. 31.

Wpływ *Fe* w ekstraktach ziemnych. (*Fe*-Wirkung in Bodenextracten).

			Przybytek *N* (Gewinn) *mg*
20 cm^3	Ekstr. ziemi ogrodowej (popiół) (Gartenerdeextract-Asche)		8·9 ± 0·40
„	„	+ 3·5 *mg Fe*-citr.	4·6 ± 0·32
„	„	+ 0·7 „ „ „	5·3 ± 0·21
5 cm^3	„		4·4 ± 0·16
„	„	+ 3·5 „ „ „	3·1 ± 0·30
„	„	+ 0·7 „ „ „	3·5 + 0·24
0	„		0·28 ± 0·08
„	„	+ 3·5 „ „ „	0·83 ± 0·0
„	„	+ 0·7 „ „ „	0·66 ± 0·12
„	„	+ 0·5 „ $Fe\,Cl_3$	0·46 ± 0·09 ·

ale je obniżył, i to w obu wypadkach, tak przy 20 jak przy 5 cm^3, a samo żelazo działało coprawda w hodowlach bez dodatku popiołu ekstraktu glebowego, ale bardzo słabo. Wobec powyższego wyniku — nie zbici narazie z tropu, jak sądziliśmy dobrego — przeprowadziliśmy cały szereg doświadczeń w przekonaniu, że żelazo jest istotnie tym mineralnym czynnikiem aktywnym, a że negatywne wyniki powyższego doświadczenia wskazują na to, że podaliśmy żelazo w n i e o d p o w i e d n i e j formie. W następstwie więc przeprowadziliśmy dużo doświadczeń z przeróżnemi jego związkami, z różnemi jego solami nieorganicznemi i organicznemi, i z próbkami rud żelaznych różnego pochodzenia. Rezygnując z odtwarzania tych dla nas żałosnych w wynikach swych doświadczeń, wspominamy tylko, iż preparaty różnych soli żelaza były tem czynniejsze, im mniej były czystemi — najskuteczniejsze były dawki rud łąkowych, choć skuteczność ich, mierzona ilością związanego przez hodowle azotu, zrzadka przekraczała w 100 cm^3 pożywki 2 *mg*.

W tym stanie rzeczy powróciliśmy do dawnych koncepcyj P r a ż m o w s k i e g o i S ö h n g e n a, dopatrując się przyczyn działania czynników mineralnych w ich stanie fizycznym, ściślej mówiąc, kolloidalnym. Powód tego naszego nawrotu do dawniejszych koncepcyj, w tłumaczeniu mechanizmu działania tych kolloidów coprawda dość

mglistych, został spowodowany i tem, że rozpuszczone popioły czynne przeróżnych substancyj znajdywały się niewątpliwie częściowo w stanie kolloidalnym, bo dodatki ich do pożywek klarownych wywoływały zawsze pewne, choć nieraz bardzo słabe opalizowanie tych pożywek, a prócz tego z wyników różnych własnych doświadczeń wiedzieliśmy, iż wszystkie kolloidy, jakie kiedykolwiek stosowaliśmy, dawały zawsze, aczkolwiek nierówne i nieraz słabe, wyniki pozytywne.

Postanowiliśmy więc pójść w „kierunku kolloidalnym", stawiając doświadczenie dla zbadania działania krzemionki kolloidalnej, której preparat jako „Silicagel" zawdzięczamy łaskawości p. prof. Wojciecha Świętosławskiego, któremu i na tem miejscu zań dziękujemy. Wobec tego, że p. prof. Świętosławski nie mógł nam nic pewnego co do czystości tego preparatu powiedzieć, użyliśmy go w stanie takim, w jakim go otrzymaliśmy i po długotrwałej dializie w H_2O dest. e vitro.

Wynik podaje tab. XX. Jedna grupa, z 1 *g* krzemionki dializowanej, popsuła się niestety.

Azotobacter C. 27° C. **Tabela XX.** 14 dni (Tage). 5. V. 31

Żel krzemionkowy (Silicagel).

Ilość (Menge)	1000 *mg*	500 *mg*	100 *mg*	50 *mg*	10 *mg*	4 *mg*	0
Niedializowany (Undialysiert) Przybyło *N* w *mg* (Zunahme)	11·24 ± 0·65	5·32 ± 0·00	2·96 ± 0·0	2·82 ± 0·06	0·56 ± 0·05	0·42 ± 0·09	0
		„	„	„	„		
Dializowany (Dialysiert) Przybyło *N* w *mg* (Zunahme)	—	0·46 ± 0·08	0·52 ± 0·05	0·56 ± 0·05	0·65 ± 0·06	0·52 ± 0·10	0

Wynik doświadczenia powyższego jest tak wyraźny, że pogrzebał definitywnie nasze nadzieje wytłumaczenia, usprawiedliwionego faktami, działania czynnika mineralnego jego stanem kolloidalnym. „Silicagel", surowy, dał dobre wyniki, dializowany żadnych. Przystąpiliśmy w następstwie do systematycznych prób nad działaniem różnych pierwiastków, w różnych ich ilościowych i jakościowych kombinacjach.

W tym stanie badań poznaliśmy — coprawda tylko z referatu dość krótkiego — wyniki badań Bortels'a, który stwierdził, że

molybden jest tym poszukiwanym aktywatorem działalności *azotobaktera*. Natychmiast przystąpiliśmy do sprawdzenia molybdenu. Wyniki tego pierwszego naszego doświadczenia z Mo podajemy poniżej (tab. XXI), bo nie są one zgodne, o ile możemy sądzić z treści referatu, z wynikami B o r t e l s'a.

Molybden użyliśmy w różnych dawkach jako H_2MoO_4 w naszej standartowej pożywce.

Azotobacter C. 28⁰ C. **Tabela XXI.** 14 dni (Tage). 7. VII. 31.

Molybden (Molybdän).

Ilość Mo w H_2MoO_4 Menge Mo	1·0 *mg*	0·5 *mg*	0·1 *mg*	0·05 *mg*	0·01 *mg*	0·004 *mg*	0
Przybyło *N* w *mg* (Zunahme)	1·59 ± 0·24	1·59 ± 0·05	1·73 ± 0·07	1·89 ± 0·10	1·68 ± 0·28	1·64 ± 0·08	0

Widzimy, że molybden działa niewątpliwie, ale skuteczność jego jest nieduża i w żadnej dawce nie osiąga efektu otrzymywanego z ekstraktami wzgl. z popiołami tych ekstraktów. Pozatem zbadaliśmy wszystkie jeszcze posiadane popioły ekstraktów używanych w dawniejszych doświadczeniach i kilka ekstraktów jako takich, w różnym stanie ich zagęszczenia, na molybden, z wynikiem n e g a t y w n y m. Czułość stosowanych reakcyj była bardzo wielka, n. p. reakcją etylksantogenianową można wykryć jeszcze 0·04 γ molybdenu. Rozumie się, że przeprowadzaliśmy wszystkie reakcje na kontrolnych rozczynach molybdenu o różnej koncentracji. Wobec tego nie możemy uważać molybdenu za j e d y n y czynnik mineralny, od którego obecności wyłącznie zależy działanie ekstraktów gotowanych czy ich popiołów.

Starania nasze wyświetlenia tych zagadnień prowadzimy dalej.

4. Streszczenie wyników.

1. Ekstrakty z gleb, z towarzyszących *azobakterowi* bakteryj symbiotycznych, z drożdży, z kiełkujących zbóż i preparaty witaminowe działają w stanie niegotowanym na wiązanie azotu przez *azotobaktera* znacznie silniej niż te same ekstrakty w stanie gotowanym.

2. Czynność tych ekstraktów sprowadza się na 2 lub 3 czynniki: *a*) czynnik wrażliwy na temperaturę, a więc należący do kategorji ciał zwanych „biosem", „auximonami" lub „witaminami", *b*) czynnik

mineralny, który częściowo jest prawdopodobnie molybdenem, jak to odkrył Bortels, i *c*) czynnik lotny (w ekstraktach glebowych), którego natury nie określono.

3. Pozytywne działanie różnych substancyj kolloidalnych martwych, a głównie mineralnych, polega nie na ich stanie fizycznym, więc kolloidalnym, a na czynniku, który można przez dializę skutecznie usunąć.

Zakład fizjologji roślin Uniw. Warszawskiego.

Spis literatury.

1. Bassalik, K. 1931. Pamiętnik III. Zjazdu bot. Słow. w Warszawie.
2. — i J. Neugebauer, 1930. Compt. rend. Soc. Sc. et Lettr. Varsovie. **23**. Cl. IV. 108.
3. Beijerinck, M. W. 1901. Cbl. Bact. II. **7**. 561.
4. — 1908. Versl. K. Akad. Wetensch. Amsterdam, 46.
5. — 1910. Versl. K. Akad. Wetensch. **13**. 1066.
6. — et van Delden, 1902. Cbl. Bact. II. **9**. 3.
7. Bortels, H. 1930. Arch. Mikr. **1**. 332. (ref. Ber. ges. Biol. B. **59**. 1931. 153).
8. Feigel, Fr. 1931. Qual. Anal. m. H. v. Tüpfelreakt. Leipzig.
9. Fred, E. B. et Davenport, A. 1918. Jour. Agric. Res. **14**. 317.
10. — et Hart, E. B. 1915. Agr. Exp. Stat. Uniw. Wisconsin, Bull. **35**. 35.
11. Gainey, P. L. et Batchelor, H. W. 1923. Jour. Agr. Res. **24**. 759.
12. Gerlach et Vogel, 1901. Cbl. Bact. II. **8**. 669.
13. — 1902. ib. **9**. 80. 817.
14. — 1903. ib. **10**. 643.
15. Heinze, B. 1904. Cbl. Bact. **12**. 61.
16. Hills, T. L. 1918. Jour. Agr. Res. **12**. 183.
17. Itano, A. 1923. Jour. Bact. **8**. 483.
18. Kaserer, H. 1911. Ztschr. landw. Vers. Wes. Öst. **14**.
19. Kayser, E. 1921. Comp. rend. Acad. Sc. Paris. **172**. 1133.
20. — et Delaval. 1924. ib. **179**. 111.
21. Kotek, F. 1930. Compt. rend. Soc. Sc. Lettr. Varsovie. **23**. Cl. IV. 107.
22. — 1931. Acta Soc. Bot. Pol. **8**. 47.
23. Krainskij, A. 1907. Cbl. Bact. II. **20**. 725.
24. Krzemieniewska, H. 1908. Bull. Acad. Sc. Cracovie. B. 445.
25. — 1910. ib. 376.
26. Krzemieniewscy, S. i H. 1906. ib. 568.
27. Krzemieniewski, S. 1907. ib. 746.
28. — 1908. ib. 1022.
29. — 1909. Cbl. Bact. II. **23**. 161.
30. Löhnis, P. 1904. Cbl. Bact. II. **12**. 464.
31. — et Green, H. H. 1914. ib. **40**. 52.
32. — et Pillai, N. K. 1907. ib. 781.
33. — et Westermann, T. 1909. ib. **22**. 234.
34. Meyerhof, O. et Burk, D. 1928. Ztschr. Phys. Chem. A. **139** 117.
35. Montanari, C. 1917. Staz. spez. agr. ital. **50**. 69.

37. Newton Friend, N. 1926. Textb. Inorg. Chem., 7. III. (Reece H. Vallance et A. A. Eldridge). London.

38. Olsen, C. 1930. Comp. rend. Lab. Carlsb. **18**.

39. Pillai, N. K. 1908. Inaug. Diss. Leipzig.

40. Prażmowski, A. 1912. Bull. int. Acad. Sc. Cracovie. Sc. math. nat. B. 855.

41. Remy, Th. et Rösing, G. 1911. Cbl. Bact. II. **30**. 349.

42. Rösing, G. 1912. Cbl. Bact. II. **33**.

43. Söhngen, N. L. 1913. Cbl. Bact. II. **38**. 621.

44. — 1914. ib. **40**. 266.

45. Stoklasa, J. 1913. Comp. rend. Acad. Sc. Paris. **157**. 879.

46. Trufaut, G. et Bezssonoff, N. 1926. Comp. rend. Acad. Sc. Paris. **182**. 663.

47. Werkman, C. H. 1928. Jour. Bact. **14**. 335.

48. Yamagato, U. et Itano, A. 1923. Jour. Bact. **8**. 521.

49. Zoond, A. 1926. Brit. Jour. Exp. Biol. **4**. 105.

Zusammenfassung.

Die Hauptergebnisse unserer mehrjährigen Untersuchungen über die Natur der die N = Fixierung von *Azotobacter chroococcum* stimulierender Faktoren lassen sich folgendermassen zusammenfassen:

1) *Azotobacter* wächst nicht und bindet keinen Stickstoff in synthetischen Nährlösungen.

2) Sein Wachstum und Stickstoffbindung wird mächtig angeregt durch ungekochte, also durch Porzellankerzen filtrierte und ungekocht den „Standart-Nährlösungen" zugesetzte Extracte von Böden, von mit *Azotobacter* vergesellschaftet lebenden sporenlosen Bacterien, von Hefen und durch Extracte aus Pflanzen und tierischen Organen wie auch durch Vitaminpräparate (untersucht wurden Vitamine B, C_1 und C_2 und D).

3) Durch Kochen wird — je nach der Herkunft des Extracts, — eine beträchtlicher, oft mehr als 50% seiner Wirkung betragender Betrag zerstört.

4) Die Wirkung gekochter Extracte beruht hauptsächlich auf der Wirkung der im Extract befindlichen Aschenbestandteile, zum geringen Teil, je nach dem Bodencharakter der daraus gewonnenen Extracte, etwa 7—20%, auf der Wirkung flüchtiger Stoffe unbekannter Natur.

5) Est ist nicht Molybdän allein, das die Wirkung von Extractaschen hervorruft, obzwar Molybdän unzweifelhaft einer der aktivierenden Aschenbestandteile ist, aktiver, als irgend ein anderer von uns versuchter Stoff, falls für sich allein angewendet.

6) Die günstige Wirkung kolloidaler Stoffe in Nährlösungen beruht auf deren „Verunreinigungen“. „Silicagel“ z. b. wirkte undialysiert sehr gut, dialysiert fast gar nicht.

7) Kurz zusammenfassend lässt sich folgendes sagen: Die Wirkung von verschiedenen Extracten beruht einerseits auf Temperaturempfindlichen Stoffen, die man „Bios“, „Auximone“, „Wuchsstoffe“ und „Vitamine“ nennt, anderseits auf mineralischen Stoffen, die in jenen Extracten enthalten sind, und deren einer unzweifelhaft Molybdän ist, wie dies schon von *Bortels* festgestellt worden war.

Unsere Untersuchungen werden fortgesetzt.

Pflanzenphysiologisches Institut d. Universität Warschau.

Nekrologja.

STANISŁAW WISŁOUCH.

(1875—1927)

(Wspomnienie pośmiertne).

Przez śmierć Stanisława Wisłoucha (zmarłego 10 lipca 1927 roku) nauka polska straciła wybitnego hydrobiologa, któremu, niestety, losy pozwoliły zbyt krótko działać na terenie Polski.

Urodzony w Mińszczyźnie 24 stycznia 1875 roku, siłą okoliczności życiowych znalazł się w Rosji i tam większość życia swego spędził. Szkołę średnią kończy w Ekaterynburgu na Uralu, następnie studjuje (1894—98) leśnictwo w Instytucie leśnym w Petersburgu. Długi czas waha się w wyborze zawodu, zajmując od r. 1898 do 1904 różne prywatne i rządowe posady w Rosji, czy jako leśnik, czy jako urzędnik akcyzy. Dopiero w roku 1904 dostaje się do pracowni botanicznej prof. G. Nadsona przy Instytucie Medycznym dla kobiet w Petersburgu z początku w charakterze praktykanta i tam wprowadzony przez swego profesora, wybitnego mikrobiologa, w krąg jego zagadnień, stopniowo zostaje wciągnięty do pracy naukowej, której pozostaje wierny do końca życia. Od roku 1906—1908 zajmuje posadę asystenta na Stacji Oceny Nasion przy Ogrodzie Botanicznym w Petersburgu, ogłaszając pierwszą drobną pracę z tej dziedziny o wadze holenderskiej i jej stosunku do wagi absolutnej ziarna. Obejmuje następnie posadę laboranta a potem asystenta przy katedrze botaniki Instytutu Medycznego dla kobiet i na tem skromnem stanowisku pozostaje aż do roku 1919.

Wykształcenie swoje uzupełnia zagranicą, pracując w roku 1909 w Berlinie, gdzie pod kierunkiem prof. R. Kolkwitza zaznajamia się z sanitarno-biologiczną analizą wód i metodyką badania planktonu w tak zw. „Prüfungsanstalt für Wasserversorgung und Abwässerbeseitigung“ (obecnie Landesanstalt für Wasserhygiene). Lato r. 1912 spędza na Stacji Morskiej na Helgolandzie, zaznajamiając się z bio-

logją morza i zbierając materjały do flory glonów. Od r. 1913—1916 wykłada jako docent kurs systematyki glonów, grzybów i bakteryj w Instytucie Neurobiologicznym.

Po szeregu prac dotyczących morfologji i biologji niektórych mikroorganizmów, jak glony, chryzomonady i bakterje siarczane, rozpoczyna on cykl ciekawych sanitarno-biologicznych badań przy ujściu Newy i w zatoce Fińskiej, podjętych przez Magistrat miasta Peters-



Stanisław Wisłouch.

burga w celu przebudowy ścieków, lecz wybuch wojny przerywa je zupełnie.

W roku 1917 bada solniska Krymskie i stara się poznać genezę szlamów leczniczych w okolicach jeziora Saki i okolicznych zbiorowisk wód słonych, wydelegowany przez Wydział Hydrometryczny Ministerstwa Rolnictwa, lecz rewolucja bolszewicka znów kładzie kres tym badaniom, obliczonym na długi szereg lat.

W roku 1918 powołany na katedrę systematyki roślin niższych przez nowo utworzony w Petersburgu Instytut Agronomiczny, ener-

gicznie zabiera się do stworzenia samodzielnego warsztatu pracy i niebawem staje na czele zorganizowanej przez siebie Stacji Hydrobiologicznej tegoż Instytutu w Carskiem Siole (obecnie Dietskoje Sieło), zostaje przewodniczącym Komitetu badawczego tegoż Instytutu i bierze czynny udział we wszystkich sprawach naukowych z hydrobiologją związanych, jako przewodniczący Wydziału Hydrobiologicznego Rosyjskiego Instytutu Hydrologicznego (od r. 1920) i członek Komitetu Sapropelowego przy Komisji badania bogactw naturalnych Rosji przy Akademji Nauk w Petersburgu.

W sierpniu roku 1922 zostaje aresztowany wraz z gronem profesorów i literatów, podejrzanych przez rząd bolszewicki o „kontrrewolucję“ i po dwóch miesiącach więzienia w listopadzie tegoż roku zostaje wysłany do Polski jako optant.

Po tych wstrząśnieniach fizycznej i moralnej natury ś. p. Stanisław Wisłouch przybywa do Polski z mocno nadwerężonem zdrowiem, i niestety, narazie nie może sobie zdobyć odpowiedniego stanowiska.

Początkowo pracuje w Instytucie Hygjeny w Warszawie, zajęty wykonywaniem sanitarno-biologicznych analiz wód Wisły i studzien, następnie otrzymuje skromną posadę adjunkta i wkrótce potem docenta botaniki na Wydziale Farmaceutycznym Uniwersytetu Warszawskiego, co zabezpieczało mu jako tako mizerną egzystencję, lecz pochłaniało dużo czasu na pracę pedagogiczną. W oczekiwaniu na katedrę, o którą dla niego Wydział Farmaceutyczny zabiegał, zaczyna nawiązywać nić przerwanej pracy naukowej, spędzając zwłaszcza miesiące wakacyjne (1924—26) na Stacji Hydrobiologicznej na Wigrach, gdzie przeprowadza szeroko zakrojone studja nad planktonem roślinnym oraz drobnoustrojami osadów dennych; niestety, część tylko swych badań zdołał ogłosić przed śmiercią, która nastąpiła wskutek nowotworu na mózgu.

Zainteresowania naukowe St. Wisłoucha szły w kierunku, do którego go zachęcił jego nauczyciel prof. G. Nadson, badacz niższych organizmów roślinnych. Badając komórki krasnorostu — *Porphyra*, wykazał, że twór, który dotąd brano za jądro, jest pirenoidem; zwrócił następnie uwagę główną na organizmy spotykane w wodach zanieczyszczonych i w mule, jak bakterje siarczane, sinice, wiciowce i okrzemki, i w tej dziedzinie, badając morfologję i biologję tych organizmów, doszedł do wielkiego znawstwa.

Prace jego nie były efektowne, lecz doskonale opracowane w szczegółach, analizę morfologiczną form organizmów autor przeprowadzał niezmiernie sumiennie i gruntownie, nie uganiając się by-

najmniej za opisywaniem jak największej ilości form nowych, jednakże skrupulatne studja doprowadziły go do opisu szeregu nowych gatunków i form, bardzo dobrze uzasadnionych i świetnie ilustrowanych doskonale wykonanemi rysunkami. Listę tych nowych gatunków przytaczam niżej; zawiera ona 2 gatunki bakteryj, 4 — sinic, 10 — wiciowców, 1 — bruzdnicę, 13 — okrzemek i 3 — *Volvocales*; wśród nich są i 2 nowe rodzaje: *Chrysoglena (Chrysomonadinae)* i *Raciborskiella (Volvocales)*.

Poznawszy gruntownie metody analizy biologicznej wód i badania planktonu, i doszedłszy do wielkiej wprawy w rozpoznawaniu mikroorganizmów zwłaszcza wiciowców, sinic i okrzemek, St. Wisłouch zwrócił specjalną uwagę na badanie tak zwanego „sapropelu", nazwanego przez niego „biopelem", stanowiącego wierzchnią warstwę organiczną, pokrywającą osady głębinowe w jeziorach i odgrywającą doniosłą rolę w procesie przemiany materji w zbiornikach wód.

Trudnym badaniom tego „sapropelu" poświęcił szereg prac ogłoszonych w Rosji i w tym kierunku rozpoczął u nas badanie mułów Wigierskich. Interesując się z tego punktu widzenia powstawaniem szlamów leczniczych, w cennej i jedynej w polskiej literaturze pracy dowiódł na materjale zebranym na Krymie, że istnieje pewna zależność między rozwojem mikroflory zwłaszcza sinic i bakteryj w określonych stężeniach solanki a tworzeniem się czarnego szlamu leczniczego i że czarny szlam wytwarza się kosztem fauny i flory, niezależnie od ich składu jakościowego.

Przedmiotem jego zainteresowań jeszcze w Petersburgu była również biologiczna analiza wód dla celów sanitarnych. Badał on z tego punktu widzenia wody ujścia Newy i dał w języku rosyjskim pierwszy podręcznik tego rodzaju, oparty na oryginalnych badaniach. Zająwszy stanowisko krytyczne do metody Kolkwitza i Marssona, wskazał, że ich listy mikroorganizmów przewodnich nie wszędzie dadzą się zastosować.

Po przyjeździe do Warszawy wykonał ciekawe badania na Wiśle poniżej Warszawy i przedstawił w referatach w Polskiem Towarzystwie Botanicznem i na 12 Zjeździe lekarzy i przyrodników w Warszawie (w r. 1925) groźne „Memento" dla stolicy, gdyż dowiódł, że wody Wisły na przestrzeni od Warszawy do Modlina bynajmniej nie ulegają samooczyszczeniu, lecz zawierają jeszcze dużo substancyj gnijących ze ścieków miejskich. Żałować należy, że wyniki tej pracy tak niezmiernie ważnej dla stosunków sanitarnych stolicy nie zostały dotąd ogłoszone drukiem.

W osobie ś. p. Stanisława Wisłoucha nauka polska straciła hydrobiologa dużej miary i słusznie pisze dr. A. Lityński[1]), że „żałować trzeba, że rozległego jego doświadczenia, gruntownej znajomości przedmiotu i niegasnącego zapału do twórczej pracy naukowej nie potrafiliśmy w sposób właściwy wyzyskać dla dobra wiedzy. Nie było mu danem wychować u nas zastępu młodych pracowników na polu właściwej specjalności".

Tragiczny los tak sprawił, że jedyna nasza wspólna uczennica, po której algologja w Polsce mogła się jeszcze dużo spodziewać — Halina z Kowalskich Ryppowa zgasła w kwiecie wieku 19-go marca w tym samym roku 1927 co i śp. Stanisław Wisłouch.

Pozostawił on po sobie pamięć zacnego człowieka, uczynnego kolegi i niezastąpioną lukę w szczupłych szeregach polskich hydrobiologów.

Spis prac Stanisława Wisłoucha.
(Bibliographie des travaux de Stanislas Wisłouch).

1. Natura zierna i jejo otnoszenje k absolutnomu wiesu. — (La nature de grain et sa relation au poid absolu). — Siewiernoje Choziajstwo. 1906.

2. K anatomji kletki u *Porphyra* (Contribution à l'anatomie de la cellule chez *Porphyra*). — Izwiestja St. Petersburg. Bot. Sada (Bulletin du Jardin Botan. de St. Petersburg). 1908.

3. O wymierzanji wodorosli *Stichococcus bacillaris* pri razlicznych usłowiach żyzni. (Sur la perte de la gelée d'une algue *Stichococcus bacillaris* dans les conditions différentes de la vie). Ibidem. 1910.

4. *Palatinella cyrtophora* Laut. f. *minor* f. nov. i *Synura reticulata* Lemm dwie nowyja dla Rossii chrizomonady. (Deux nouveaux pour la Russie Chrysomonadines). — Ibidem. 1910.

5. *Spirulina flavovirens* (nov. sp.) i cwietienje wody, wyzwannoje wodoroslju *Oscillaria Agardhii*. (*Spirulina flavovirens* n. sp. et la floraison d'eau amenée par une algue *Oscillaria Agardhii)*. — Ibidem 1911.

6. Nowyj wid siernych mikroorganizmow iz Newy *Thioploca ingrica* Wisl. (Une nouvelle espèce des microorganismes sulphatiques de Neva) Russkij Wracz.. (Le Médicin Russe). 1911.

6 a. *Thioploca ingrica* nov. sp. — Berichte d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. XXX. 1912.

7. Kratkij otczot o biołogiczeskich izsledowanjach Niewskoj Guby proizwiediennych w 1911—1912 godu. (Compte rendu préliminaire sur les recherches biologiques de l'embouchure de Neva exécutés en 1911—1912). — Izdanje St. Petersburg. Gorodskoj Dumy. 1914.

8. *Spirillum Kolkwitzii* nov. sp. i niekotoryja nowyja siernyja bakterji Molischa (*Spirillum Kolkwitzii* et quelques nouvelles bactéries sulphatiques de Molisch). Żurnał Mikrobiołogji (Journal de Microbiologie) I. 1914.

---

[1]) Lityński, A. Pamięci Stanisława Wisłoucha. Archiwum Hydrobiologji i Rybactwa. T. II. Nr. 3—4, Str. 155—159.

9. O chrizomonadach okrestnostiej Petrograda. (Sur les Chrysomonadines des environs de Pétrograd). — Żurnał Mikrobiołogji (Journal de Microbiologie). Pétrograd. T. I. 1914.

10. Wisłouch S. i Kolbe. P. Nowyja diatomowyja wodorosli iz wodojomow Rossii. (Nouvelles Diatomées des bassins de la Russie). Żurnał Mikrobiołogji (Journal de Microbiologie). T. III. 1916. Pétrograd.

11. K woprosu o primienimosti pokazatielnych organizmow Kolkwitza i Marsson'a w Rossii. (Sur l'application des organismcs d'essai de Kolkwitz et Marsson en Russié). Ibidem. 1916.

12. Biołogiczeskij analiz wody. (Analyse biologique de l'eau). — S. I. Złatogorow. Uczenje o mikroorganizmach. Cz. II. 1916.

13. O rozmieszczenji sapropeła *Botryococcus* w ozierie Bałchasz. (Sur la distribution du *Botryococcus* Sapropel dans le lac Balkache). — „Nieftianoje i Słancewoje Choziajstwo". 1920.

14. K poznanju organizmow Niewskoj Guby (Contribution à la connaissance des organismes de l'embouchure de Neva). Izd. Russ. Gidrołogiczeskago Instituta (Edition de l'Institut Hydrologique Russe). 1921.

15. Matierjały po diatomowym Jarosławskoj gubernji (Materials of the Diatoms of the Gouvernment of Jaroslavl). — Trudy Jarosławskago Obszcz. Jestiestwoisp. (Travaux de la Société des Naturalistes de Jaroslavl). 1921.

16. Algołogiczeskija zamietki (Notices algologiques) I—IV. Trudy Rus. Protistołogiczeskago Obszcz. (Travaux de la Soc. Russe Protistologique). Moskwa. 1922.

17. Wislouch, S. i Nadson, G. A. Ob oksalitosiernom mikroorganizmie *Achromatium oxaliferum*. Leningrad. 1922.

18. Zamietka o bakterjalnom sapropele (Bemerkung über Bakterien-Sapropel). — Russkij Gidrobiołog. Żurnał. (Russische Hydrobiologische Zeitschrift). I. Nr. 9–10, 1922. Saratow.

19. Beiträge zur Diatomeenflora von Asien. I. Die Diatomeen des Balchasch-Sees. — Berichte d. Deutsch. Bot. Gesellsch. 1923. XLI. H. 8.

20. Zamietka o sapropele oziera Mojnak w Krymu. (Note sur Sapropel du lac Moynac dans la Crimée). Trudy Sapropelewogo Komitieta I (Travaux du Comité des Recherches sur Sapropel) I. 1923.

21. Beiträge zur Diatomeenflora von Asien. II. Neuere Untersuchungen über die Diatomeen des Baikal-Sees. — Berichte der Deutsch. Bot. Gesellsch. 1924. Bd. XLII, H. 4.

22. Przyczynek do biologji solnisk i genezy szlamów leczniczych na Krymie. (Beiträge zur Biologie und Entstehung von Heilschlamm der Salinen der Krim). — Acta Soc. Bot. Poloniae. Vol. II, Nr. 2. 1924.

23. Fitobiołogiczeskij analiz sapropelita iz Końskowa (Analyse phytobiologique de la sapropelite de Końskow). — Trudy sapropełowogo Komitieta. (Travaux du Comité des Recherches sur sapropel). II. 1925.

24. Fitobiołogiczeskij analiz iskopajemago sapropelita w Kosze. (Analyse phytobiologique de la sapropelite fossile à Koche). Ibidem II. 1925.

25. Fitobiołogiczeskij analiz „ziemlistago torfa" iz obnażenja nad rjekoj Wielikaja Sosza (Analyse phytobiologique de la tourbe de l'ouverture au bord de la rivière Wielikaja Socha). Ibidem II. 1925.

26. Fitobiołogiczeskij analiz menzelinskago słanca (Analyse phytobiologique du schiste combustible de Menzelinsk). Ibidem III, 1925.

27. Referaty hydrobiologiczne (Analyses des travaux hydrobiologiques). — Sprawozdanie Stacji Hydrobiologicznej na Wigrach (Comptes Rendus de la Station Hydrobiologique du lac de Wigry). I. 1925.

28. O letnim fitoplanktonie jezior Wigierskich. (Sur le phytoplancton d'été des lacs de Wigry). — Archiwum Hydrobiologji i rybactwa. T. I. Nr. I. Suwałki. 1926.

29. Sanitarno-biologiczne badania Wisły i studzien w Pruszkowie. (Recherches biologiques sanitaires de la Vistule et des puits à Pruszków). — Księga Pamiątkowa 12 Zjazdu Lekarzy i Przyrodników Polskich. (Comptes Rendus du XII Congrès des Médecins et Naturalistes Polonais). T. II. Warszawa. 1926.

30. Fitoplankton jezior Polesia (Phytoplancton des lacs de Poléssie) w pracy T. Wolskiego. Materjały do fauny wioślarek *(Cladocera)* Polesia. Cz. II. Wioślarki jezior Polesia Polskiego. — Archiwum Hydrobiologji i Rybactwa (Archives d'Hydrobiologie et d'Ichtyologie). II, 3—4. 1927.

31. Okrzemki denne jeziora Wigierskiego. (Diatomées du fond du lac de Wigry).

32. Drobnoustroje osadów dennych i rodzaje mułów w jeziorach Wigierskich. (Microorganismes sédimentaires et catégories des limons dans les lacs de Wigry).

33. Analiza biologiczna wody wiślanej na przestrzeni od Warszawy do Modlina. (Analyse biologique de l'eau de Vistule sur l'étendue de Varsovie à Modlin).

Spis nowych organizmów, opisanych przez Stanisława Wisłoucha.

Enumeratio novarum specierum, varietatum ac formarum a clarissimo Stanislao Wislouch descriptarum.

Bacteria. *Spirillum Kolkwitzii* Wisl., *Tioploca ingrica* Wisl.

Cyanophyceae. *Chroococcus sarcinoides* Wisl., *Synechocystis salina* Wisl., *Spirulina flavovirens* Wisl., *Sp. tenuissima* Kütz. var *salina* Wisl.

Flagellatae.

Chrysomonadinae. *Chrysopyxis ascendens* Wisl., *Chrysoglena verrucosa* Wisl. (nov. gen. et sp.), *Dinobryon protuberans* Lemm. var. *obtusatus* Wisl., *D. proteus* Wisl., *Lagynion ovatum* Wisl., *Palatinella cyrtophora* Laut. f. *minor* Wisl., *Hyalobryon wigrense* Wisl., *Phacotus lenticularis* var. *sphaerica* Wisl.

Cryptomonadinae. *Cryptomonas stigmatica* Wisl., *Cr. salina* Wisl.

Peridineae. *Exuviella asymetrica* Wisl.

Diatomeae. *Melosira baikalensis* (K. Meyer.) Wisl., *Gomphonema quadripunctatum* (Oestr.) Wisl. var. *hastata* Wisl., *Cymbella Ehrenbergii* Ktz. var. *Gutwińskii* Wisl., *C. Stuxbergii* Cl. var. *intermedia* Wisl., *Eunotia siberica* Cl. var. *neroënse* Wisl., *Surirella turgida* W. Sm. var. *lanceolata* Wisl. et Kolbe, *Cymatopleura elliptica* W. Sm. var. *discoidea* Wisl. et Kolbe, *Navicula lacustris* Greg. var. *parallela* Wisl. et Kolbe, *N. platystoma* Ehrb. var. *Pantocsekii* Wisl. et Kolbe, *Stauroneis Smithii* Gr. var. *karelica* Wisl. et Kolbe, *Pleurosigma subsalsa* Wisl. et Kolbe, *Eucocconeis onegensis* Wisl. et Kolbe, *Stephanodiscus astraea* forma *Woloszynskae* (Wolosz.) Wisl.

Volvocales. *Raciborskiella salina* Wisl. (nov. gen. et spec.), *Carteria salina* Wisl., *Stephanoptera gracilis* (Artari) Wisl. (nov. comb.) (= *Asteromonas gracilis* Artari).

Bolesław Hryniewiecki.

Stanisław Wisłouch.

(Souvenir posthume).

Stanisław Wisłouch [né le 24. I. 1875 — mort le 10. VII. 1927 à Varsovie] était originaire de la région de Mińsk. Il fit ses classes à Ekatierinbourg et termina ses études supérieures à l'Institut de Sylviculture à Petersbourg en 1898.

De 1906 à 1908 il exerce les fonctions d'assistant à la Station d'Essais des semences au Jardin Botanique à Petersbourg et — en même temps — y entreprend ses premières études scientifiques sur les organismes inférieurs, sous la direction du professeur G. Nadson. Bientôt, en 1908, il devient assistant à la chaire de botanique à l'Institut de Médicine pour les femmes et reste à ce poste jusqu'en 1919. Durant ce laps de temps Stan. Wisłouch continue, également, ses recherches scientifiques: à Berlin, en 1909, sous la direction du professeur R. Kolkwitz, — sur l'analyse biologique, sanitaire des eaux, et, puis, en été 1912 à Helgoland.

En 1918 Stan. Wisłouch devient professeur, obtenant la chaire de la Systématique des végétaux inférieurs à l'Institut d'Agriculture à Petersbourg, ou il est bientôt élu vice-recteur et — en outre — nommé président du Comité pour les recherches, près l'Institut. En 1919 il organise la Station Hydrobiologique à Dietskoje = Carskoje Sieło et prend part aux travaux de l'Institut Hydrologique Russe.

En 1922 Stan. Wisłouch est arrêté par les autorités bolcheviques. Sorti de prison, il se rend en Pologne, arrive à Varsovie et devient, d'abord, adjoint puis — chargé de cours à la chaire de botanique à la faculté de pharmacie de l'Université.

Stan. Wisłouch a été un hydrobiologue éminent. Ses travaux se rapportent à la systématique, la morphologie et la biologie des algues et des bactéries. Il a été, également, connaisseur profond, surtout des bactéries sulfureuses, des Chrysomonades et des Diatomées, parmi lesquelles il a distingué et décrit bien des espèces nouvelles; en outre Stanisław Wisłouch a laissé des travaux précieux concernant l'analyse biologique des eaux, la formation des limons curatifs et le sapropèle.

Bolesław Hryniewiecki.

FERDYNAND KARO.

(1845—1927).

Wspomnienie pośmiertne.

Dnia 3 września 1927 r. zmarł w 83 roku życia nestor florystów polskich, aptekarz z zawodu, Ferdynand Karo. Urodzony w roku 1845, wykształcenie średnie otrzymał na Śląsku w szkole realnej we Wrocławiu, gdzie nauczycielem przyrody był znany botanik, monograf skrzypów J. Milde. Pod jego kierunkiem zaczął on zaznajamiać się ze światem roślinnym i z młodzieńczym zapałem już na ławie szkolnej przystąpił do zbierania roślin i tworzenia zielników.

Po przyjeździe do Warszawy i podczas praktyki aptekarskiej, czy to w aptece H. Spiessa w Warszawie, czy następnie w aptece Wendego w Częstochowie, wszystkie chwile wolne poświęca badaniu okolicznej flory i w roku 1867 ogłasza pierwszą notatkę o florze okolic Warszawy.

Podczas studjów uniwersyteckich na ławach Szkoły Głównej zawiera F. Karo dozgonną przyjaźń z J. Rostafińskim, odbywa z nim wspólne wycieczki i dostarcza mu sporo wiadomości do jego „Prodromus'u". Jako właściciel apteki początkowo w Łosicach w Siedleckiem, a następnie w Częstochowie, bada gorliwie miejscową florę i z chwilą powstania „Pamiętnika Fizjograficznego" ogłasza bardzo sumiennie opracowaną florę Częstochowy (943 gatunki). Przeniosłszy się następnie do Lublina, bada również florę okolic tego miasta oraz okolic Chełma, zwracając uwagę na rzadkie gatunki i odmiany; na Stawskiej Górze pod Chełmem odkrywa stanowisko *Carlina acanthifolia* Bess. Z wielkim trudem zgromadzony przez niego zielnik nie tylko drogą zbiorów osobistych, lecz i drogą wymiany z zagranicznymi botanikami, zostaje przez niego oddany Towarzystwu Farmaceutycznemu i z chwilą powstania Polskiego Uniwersytetu w Warszawie staje się bardzo poważnym fundamentem dla Zielnika Systematyki Roślin Uniwersytetu Warszawskiego.

W roku 1880 F. Karo zostaje przeniesiony jako aptekarz wojskowy do Irkucka i tam, zainteresowawszy się bogatą florą Syberji, zaczyna zbierać i wysyłać duże zielniki zagranicę do ważniejszych centrów naukowych; wchodzi w kontakt z wydawcą zielników L. Richterem z Budapesztu, a następnie ze znanym botanikiem z Pragi Czeskiej Józefem Freynem, który opracowuje jego kolekcje i drukuje przyczynki do flory Syberji, przeważnie w „Oesterreichische Botanische Zeitschrift". Następnym etapem pobytu Karo w Syberji był Nerczyńsk, gdzie przez cztery lata (od r. 1889—1893) zbiera on olbrzymie kolekcje.

Wróciwszy w roku 1894 do kraju, nabywa aptekę w Magnuszewie w Kozienickiem, lecz żądza poznania nowych krain i nowej flory kusi go do wyjazdu na daleki Wschód. Tym razem w r. 1898 wyrusza na posadę do Błagowieszczeńska nad Amurem, a następnie do apteki w kopalni złota nad rzeką Zeją — t. zw. Zejskaja Pristań (o 900 wiorst od Błagowieszczeńska); tam trafia na florę bardzo mało wówczas zbadaną i znów przesyła muzeom botanicznym Europy niezmiernie bogaty materjał, opracowany następnie przez J. Freyna, który opisał z tych zbiorów kilkadziesiąt nowych gatunków i odmian, opatrując niektóre z nich nazwiskiem polskiego badacza (6 gatunków).



Ferdynand Karo.

Jeden nowy gatunek F. Karo opisał sam, poświęcając go przyjacielowi, a mianowicie: *Cypripedium Freynii* Karo.

W ciągu 20 lat pobytu na Syberji F. Karo zebrał do 80.000 okazów roślin. Ile trzeba było włożyć pracy, żeby tak olbrzymi materjał zebrać, ułożyć i *lege artis* zasuszyć, to oceni każdy florysta.

W jednym z listów do J. Freyna tak pisze F. Karo o swojej pracy:

„Codziennie o godz. 3-ej rano podczas mgły i rosy wychodzę na wyprawę botaniczną w okolice, gdyż mogę zbierać rośliny tylko do godz. 8-ej rano, gdyż o tej godzinie muszę być już przy pracy

zawodowej. Muszę poprostu kraść czas, żeby zdążyć w ciągu dnia przełożyć rośliny i wysuszyć papier. Praca taka trwa dzień w dzień przez całe lato do września; dopiero gdy przyjdą pierwsze mrozy, czuję zadowolenie, że mogę nareszcie odpocząć. Komary i moskity mogą tu każdego zbieracza doprowadzić do rozpaczy; jest to w dosłownem znaczeniu wyrazu krwawa praca".

Jeżeli dodamy do tego jeszcze troski ze zdobyciem odpowiedniego papieru, to musimy przyznać, że trzeba było mieć wielkie zamiło-



Ferdynand Karo.

wanie do botaniki, żeby podjąć tak ofiarny trud i tak świetnie go wykonać.

To też dziś we wszystkich większych muzeach botanicznych spotykamy „*Plantae Karoanae*", które uczyniły imię jego znanem w świecie botaników systematyków.

Jego pierwsze badania nad florą polską odbywały się w niezwykle niesprzyjających warunkach, kiedy botaników było niewielu i brak było odpowiednich polskich instytucyj naukowych. Na terenie b. Kongresówki wraz z J. Wagą, W. Jastrzębowskim a następnie J. Rostafińskim należał on do pierwszych pionierów na

polu nowoczesnej florystyki. Przez swoje badania florystyczne okolic Warszawy, Łosic, Częstochowy i Lublina przyczynił się on znakomicie do posunięcia naprzód sprawy poznania naszej flory, a z wielkim mozołem i pietyzmem zgromadzony przez niego i świetnie dzięki jego pieczy przechowany w Warszawie zielnik na wieczne czasy pozostanie pamiątką tego wielkiego umiłowania sprawy poznania świata roślinnego.

Ś. p. Ferdynand Karo brał również udział w ruchu powstaniowym w r. 1863; był on w bliskiej styczności z R. Trauguttem; apteka, w której pracował w Warszawie, ułatwiała przez niego stosunki konspiracyjne. Parokrotnie jako kurjer Rządu Narodowego podejrzewany przez władze rosyjskie był aresztowywany, lecz w braku dowodów wypuszczony.

Na schyłku swego życia w ojczyźnie wolnej ś. p. Ferdynand Karo za swą mozolną i nieskazitelną pracę dla celów idealnych doczekał się uznania w postaci uroczystego obchodu jubileuszu 65-letniej pracy zawodowej (obchodzonego 9 czerwca 1925 r. przez Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne) i nadania członkowstwa honorowego zarówno przez Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne, jak i Polskie Towarzystwo Botaniczne (w r. 1925).

Prace F. Karo.

1. Einiges über die Flora der Umgebung von Warschau. — Oester. Bot. Zeit. 1867. P. 397—399.
2. Einiges zur Flora von Polen, insbesondere des Städtchens Łosice. — Oester. Bot. Zeit. XXI. 1871. P. 243—248, 273—275.
3. Zur Flora von Polen, insbesondere des Städtchens Łosice. — Oester. Bot. Zeit. XXIX. 1879. P. 253—330.
4. Flora okolic Częstochowy. — Pamiętnik Fizyograficzny. I. 1881. Str. 208—257.
5. Spis rzadszych krajowych roślin zebranych w latach 1881 i 1882 w okolicach Lublina oraz pod Stawską Górą za Chełmem. — Pam. Fiz. III. 1883. Str. 292—317.

Opracowanie kolekcyj F. Karo przez J. Freyna,

Freyn, J. Plantae Karoanae. — Oester. Botan. Zeitschr. XXXIX. 1889. XL. 1890. (Kolekcja z okolic Irkucka, Bajkału, Czyty i Nerczyńska).

Freyn, J. Plantae Karoanae Dahuricae. — Oster. Botan. Zeitschr. XLV. 1895. XVI. 1896.

Freyn, J. Plantae Karoanae amuricae et zeaënsae. — Oester. Botan. Zeitschr. LI. 1901. LII. 1902. LIII. 1903.

Biografja F. Karo.

Koskowski, B. F. Karo. — Wiadomości Farmaceutyczne. LII. 1925. Nr. 24.

Rostafiński, J. Ferdynand Karo jako florysta Król. Polskiego. 1867—1887. — Ibidem.

Ś. p. Karo Ferdynand. Wiadomości Farmaceutyczne. LIV. 1927. Nr. 37 Str. 849.

Spis nowych gatunków roślin zebranych przez F. Karo.

Enumeratio specierum novarum a clarissimo F. Karo in Sibiria lectarum.

Ajuga amurica Freyn, *Astragalus nertschinskensis* Freyn, *Bupleurum latifolium* Freyn, *Carex hypochlora* Freyn, *C. Karoi* Freyn, *C. seiskoënsis* Freyn, *Cypripedium Freynii* Karo, *Erigeron cupularoides* Freyn, *Euphorbia Karoi* Freyn, *Euphrasia amurensis* Freyen, *Fritillaria Maximowiczii* Freyn, *Geranium orientale* Freyn, *Ixeris scaposa* Freyn, *Linum Karoi* Freyn, *Pedicularis Karoi* Freyn, *Platanthera densa* Freyn, *Potentilla ternata* Freyn, *Ramischia obtusata* Freyn. *Rosa Karoi* Borbas, *Saussurea Karoi* Freyn, *S. stenophylla* Freyn, *S. zeaënsis* Freyn, *S. odontophylla* Freyn, *S. intermedia* Freyn, *S. virescens* Freyn, *S. dubia* Freyn, *Sedum pallescens* Freyn.

Bolesław Hryniewiecki.

Ferdinand Karo.

(Souvenir posthume).

Ferdinand Karo est né en 1845. Il a fait ses études secondaires au lycée de Wrocław (Breslau). Là déjà, encouragé par un de ses professeurs, J. Milde, il entreprend l'étude floristique et commence à collectionner des herbiers durant ses études préparatoires de pharmacien; un peu plus tard il fait des études minutieuses sur les flores des environs de Varsovie, de Łosice, de Tchenstochowa et de Lublin. Il a procuré, également, beaucoup de renseignements pour l'édition du „Prodromus“ de Rostafiński et organisé à la Société pharmaceutique de Varsovie un herbier très volumineux, lequel constitue encore aujourd'hui la partie fondamentale de l'herbier de la Pologne à d'Institut de la Systématique de plantes à l'Université de Varsovie.

Depuis 1880 Karo reporte son activité sur le territoire de la Sibérie. Il y amasse durant vingt ans des collections énormes (renfermant 80.000 exemplaires des plantes) aux environs d'Irkoutsk, de Bajkal et de Tchita, puis (1889—1893) — aux environs de Nertchinsk et, enfin (1898—1904) près de Błagowiestchensk, sur le bords de l'Amour et de la rivière Zeja (Zejskaja Pristań).

Ces herbiers déterminés par J. Freyn, ont été envoyés aux musées les plus importants de l'Europe *(Plantae Karoanae).*

Toute une série de nouvelles espèces a été dédiée à Ferdinand Karo pour respecter ainsi son mérite scientifique.

Ferdinand Karo est mort le 3. IX. 1927 à Varsovie. En 1925 il était élu membre honoraire de la Société Botanique de Pologne.

Bolesław Hryniewiecki.

BOLESŁAW NAMYSŁOWSKI.

Dnia 13 sierpnia 1929 r. zmarł w Krakowie ś. p. Prof. Dr. Bolesław Namysłowski, profesor zwyczajny botaniki i fitopatologji Wydziału Rolniczo-Leśnego Uuniwersytetu Poznańskiego. Nauka polska straciła w Nim pracownika oddanego jej całą duszą, Polskie Tow. Botaniczne jednego z pierwszych swych członków. Strata tem boleśniejsza, że odszedł w sile wieku badacz pierwszorzędny, którego twórczość mogła kwitnąć długie lata.

Rodem z Zagórza w Ziemi Sanockiej (1882), gimnazjum ukończył w Nowym Sączu, studja przyrodnicze na Wydziale Filozoficznym Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, w czasie których oddaje się botanice, a w szczególności mykologji. W r. 1905 został demonstratorem, a w r. 1908 asystentem przy katedrze anatomji i fizjologji roślin, zajmowanej przez znakomitego anatoma i mykologa Prof. E. Janczewskiego. W r. 1906 uzyskał stopień doktora filozofji, w r. 1909 został członkiem Komisji Fizjograficznej Akademji Umiejętności. W r. 1912 obejmuje stanowisko adjunkta Zakładu Rolniczo-Doświadczalnego Uniwersytetu Jagiellońskiego. W okresie wojny początkowo internowany w Rosji, w latach 1917/18 pełni obowiązki nauczyciela gimnazjum polskiego w Witebsku i bakterjologa w gubernjalnem Laboratorjum. Pod koniec 1918 r. wraca do Krakowa, skąd w r. 1919 powołany zostaje na Uniwersytet Poznański, na którym w roku 1920 mianowany zostaje profesorem nadzwyczajnym, a w r. 1922 profesorem zwyczajnym botaniki i fitopatologji Wydziału Rolniczo-Leśnego.

Mimo trudności i przeciwności życiowych Zmarły całe swe życie poświęcił wyłącznie nauce, oddając się z niestrudzonym zapałem i energją przedewszystkiem badaniu niższych roślin zarodnikowych. W latach 1906—1910 zajmuje się mykologją. Od prac fizjograficznych (wykazy grzybów niższych zebranych na wycieczkach) przechodzi do systematyki (opisy nowych gatunków) i zagadnień fizjologicznych (kwestja płciowości pleśniaków). Zapałem swym umiał zachęcić do pracy na tem polu kilku młodszych pracowników, jak K. Rouppert, P. Wiśniewski, K. Stecki i podpisany. Rezultaty badań fizjograficznych zestawił w pracach: „Prodromus Uredinearum Galiciae et Bukowinae“ (Spr. Kom. Fizjogr. Akad. Umiej., Kraków 1912) i „Śluzowce i grzyby Galicji i Bukowiny“ (Pamiętnik Fizjograficzny, Warszawa 1914). Główne wyniki badań eksperymentalnych nad pleśniakami zawarł w pracy: „Studien über Mucorineen“ (Bull. Acad. Cracovie 1910), ogólne poglądy na kwestję płciowości przedstawił

w Wszechświecie („Nowsze poglądy na płciowość pleśniaków“, 1911) i w Revue génér. de Botanique („État actuel de recherches sur la sexualitê des Mucorinées“, 1914).

W latach 1911—1914 prowadził głównie badania algologiczne i hydrobiologiczne. Zbadał mikroorganizmy podkarpackich szczaw i solanek (Spr. Kom. Fizjogr. Akad. Umiej. 1914), odkrył bogaty świat nieznanych mikroorganizmów solankowych w słonych jeziorkach w głębi kopalń Wieliczki („Über unbekannte halophile Mikroorganismen aus dem Innern des Salzbergwerkes Wieliczka“. Bull. Acad. Cracovie 1913).

Po wojnie w Poznaniu zajmuje się dalej hydrobiologją, badając „Fytoplankton Małego Morza“ (Roczniki Nauk Roln. 1923), w ostatnich zaś latach zwraca się do badań z zakresu heraldyki. Organizuje Zakład Botaniki i Fitopatologji Wydz. Roln.-Leśn. Uniw. Poznańsk., wprowadza w zakres ulubionych badań szereg młodych pracowników, którzy zdobyli już sobie imię w nauce, jak X. Fr. Wawrzyniak („Mikroflora jezior wielkopolskich“), B. Liebetanz („Badania hydrobiologiczne solanek kujawskich“), I. Hoppówna („Plankton Warty pod Poznaniem“), K. Zaleski („Studja nad rodzajem Penicillium“) i inni.

Przygodnie poruszał w pracach swych również tematy teratologiczne (2 prace), anatomiczne (3 prace), z historji botaniki (2 prace), z bakterjologji (2 prace), fitopatologji (2 prace), najcenniejsze jednak są niewątpliwie prace z zakresu mykologji (16 prac), a także hydrobiologji (9 prac).

Badacz, dla którego nauka stanowiła cel życia, człowiek nieskazitelny, kolega serdeczny, pozostawia po sobie żal powszechny i pamięć najlepszą.

A. Wodziczko.

Z działalności Towarzystwa.

Sprawozdanie z Walnego Zebrania P. T. B. w r. 1931.

W dniu 24 czerwca 1931 r. w Zakładzie Botanicznym Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie odbyło się Walne Zebranie Polskiego Towarzystwa Botanicznego przy współudziale 48 członków zwyczajnych i 20 nadzwyczajnych. Ze względu na rozpoczynający się w tymże dniu III. Zjazd botaników słowiańskich, obrady Walnego Zebrania ograniczono do spraw administracyjnych i do rozpatrzenia projektu terminologji cytologicznej, opracowanego przez Komisję, w skład której wchodzili pp. prof. Dr. Z. Wóycicki, prof. Dr. K. Rouppert i doc. Dr. K. Piech.

Z przedstawionego przez sekretarza generalnego prof. Dr. S. Dziubałtowkiego sprawozdania wynika, że w okresie sprawozdawczym (1. IV. 1930 do 31. III. 1931) liczba członków wszystkich kategoryj, oprócz honorowych, nieznacznie obniżyła się i w końcu okresu wynosiła [1]): honorowych 1, korespondentów 18 (19), zwyczajnych 168 (180), nadzwyczajnych 245 (253), razem 432 (453). Zorganizowano w Oddziałach 60 posiedzeń naukowych, na których wygłoszono 115 referatów, oraz 2 odczyty publiczne.

Dochód Towarzystwa wynosił zł. 39.869·60, rozchód zł. 21.645·47, saldo zł. 18.224·13.

Po udzieleniu absolutorjum Zarządowi na wniosek Komisji Rewizyjnej, dokonano wyborów uzupełniających do władz Towarzystwa, których skład przedstawia się jak następuje:

Zarząd: prezes prof. Z. Wóycicki oraz członkowie profesorowie: S. Dziubałtowski (sekretarz), B. Hryniewiecki (wiceprezes), St. Kulczyński, Dr. W. Moycho (skarbnik), doc. Dr. K. Piech (ekspedytor), doc. Dr. Fr. Skupieński (bibljotekarz), oraz przewodniczący Oddziałów: Warszawskiego — K. Bassalik,

---

[1]) W nawiasach liczba członków w ub. okresie sprawozdawczym.

Krakowskiego — Wł. Szafer, Lwowskiego — S. Krzemieniewski, Wileńskiego — J. Trzebiński, Poznańskiego — K. Stecki.

Komisja Rewizyjna: prof. M. Korczewski, prof. P. Hoser, W. Szmidecki.

W wyniku dyskusji nad przedstawionym przez Komisję projektem polskiego mianownictwa botanicznego w zakresie cytologji i histologji roślin uchwalono: a) projekt wydrukować i rozesłać go członkom P. T. B.; b) przedstawić go do uchwalenia Walnemu Zebraniu we Lwowie w roku 1932 i c) wyrazić serdeczne podziękowanie Komisji za pracę nad realizacją projektu. *S. D.*

Sprawozdanie z III. Zjazdu botaników słowiańskich w Polsce.

Zjazd ten odbył się w Warszawie w dniach 21—30 czerwca 1931 r. Został on poprzedzony dwiema wycieczkami naukowemi: 1) dwudniową do puszczy Białowieskiej pod kierunkiem pp.: prof. Dr. S. Dziubałtowskiego i Dr. R. Kobendzy, z liczbą uczestników 15, i 2) również dwudniową wycieczką na Stację hydrobiolologiczną na jeziorze Wigry pod kierunkiem p. Dr. S. Krupki, z liczbą uczestników 8.

Dnia 23. VI. 1931 r. odbyło się w pokojach Kasy im. Mianowskiego w pałacu Staszica zebranie towarzyskie, w którem wzięło udział około 50 osób. Wieczorem tegoż dnia zagraniczni uczestnicy Zjazdu wzięli udział w tradycyjnej uroczystości „Wianków“ na Wiśle.

Dnia 24. VI. nastąpiło uroczyste otwarcie Zjazdu w Bibljotece Narodowej przy ul. Rakowieckiej 6. W otwarciu wzięli udział przedstawiciele władz państwowych, miejskich oraz przedstawiciele poselstw krajów słowiańskich, szkół akademickich, instytucyj naukowych i społecznych.

Po uroczystem otwarciu Zjazdu przez prezesa P. T. B. p. prof. Z. Wóycickiego i wygłoszeniu referatu przez wiceprezesa p. prof. B. Hryniewieckiego na temat: „O historji botaniki w Polsce“, nastąpiło zwiedzenie wystawy bibljograficzno-botanicznej, specjalnie na Zjazd urządzonej. Na wystawę tę złożyły się prace botaniczne, czasopisma przyrodnicze, portrety wybitnych botaników polskich oraz dzieła sztuki, mające związek z botaniką.

Tegoż dnia rozpoczęto obrady naukowe w sekcjach, których było 5, a mianowicie: 1) ogólna, 2) fizjologiczna, 3) anatomiczno-morfologiczno-systematyczna, 4) ekologiczno-fitogeograficzna i 5) organizacyjno-dydaktyczna. Ilość zgłoszonych referatów wynosiła 86.

W Zjeździe brały udział 133 osoby, przyczem były reprezentowane wszystkie narody słowiańskie, prócz Rosjan.

Referaty stały na wysokim poziomie naukowym, wywoływały ożywioną dyskusję i cieszyły się liczną frekwencją.

W czasie Zjazdu goście byli podejmowani dnia 24. VI. bankietem, wydanym przez P. T. B. w Resursie Obywatelskiej. Dnia 25. VI. goście byli na przedstawieniach w różnych teatrach miejskich. Dnia 26. VI. p. Prezydent Rzeczypospolitej podejmował gości herbatką na Zamku.

W czasie Zjazdu goście zwiedzili zabytki Warszawy, niektóre zakłady naukowe, parki miejskie i Wilanów. Wiele pism przyrodniczych dedykowało swoje zeszyty III. Zjazdowi botaników słowiańskich. Numery te wręczono bezpłatnie wszystkim zagranicznym uczestnikom Zjazdu.

Dnia 26. VI. nastąpiło oficjalne zamknięcie Zjazdu. Wieczorem tegoż dnia część uczestników zagranicznych, serdecznie żegnana przez botaników polskich, udała się na 4-dniową wycieczkę pod kierunkiem p. radcy J. Kloski. Wycieczka ta, w której wzięło udział 15 osób, zwiedziła Gdynię, Hel, Kartuzy i okolice wraz z rezerwatem leśnym, Poznań i jego okolice (Kórnik, Rogalin) i Kraków, gdzie nastąpiło zakończenie wycieczki pozjazdowej.

S. D.

Compte-rendu du III-me Congrès des Botanistes Slaves, en Pologne.

Le Congrès a eu lieu à Varsovie du 21 au 30 juin 1931. Il a été précédé de deux excursions scientifiques: l'une de deux jours à Puszcza Białowieska, comptant 15 participants sous la direction du prof. Dr. S. Dziubałtowski et du Dr. Kobendza, l'autre de deux jours aussi à la Station hydrobiologique sur le lac de Wigry, comptant 8 personnes sous la direction du Dr. S. Krupko.

Le 23/6 1931 dans les salles de Kasa im. Mianowskiego du palais de Staszic, a eu lieu une réunion amicale à laquelle près de 50 personnes ont pris part. Le soir nos hôtes étrangers assistaient à la fête traditionnelle des „Wianki“, sur la Vistule. Le 24/6 a eu lieu l'ouverture solennelle du Congrès dans la Bibliothèque Nationale, rue Rakowiecka 6, à laquelle étaient présents les représentants du gouvernement, de la ville, ainsi que les représentants des Légations des états Slaves, des écoles académiques, des institutions scientifiques et sociales.

Après l'ouverture solennelle du Congrès par le Président de la Soc. Pol. Bot. Mr le Prof. Z. Wóycicki, et la lecture du rapport sur le thême: „De l'histoire de la Botanique en Pologne", par le vice-président Mr le prof. B. Hryniewiecki a eu lieu la visite de l'exposition botano-bibliographique, spécialement organisée pour le Congrès. Cette exposition comprenait les travaux botaniques, des journaux des sciences naturelles, les portraits de célèbres botanistes polonais, ainsi que des tableaux ayant des rapports avec la botanique.

Ce même jour ont commencé des sessions scientifiques dans 5 sections: 1) générale, 2) physiologique, 3) anatomo-morpho-systématique, 4) écolo-phytogéographique et 5) didactique. Quatre-vingt-six rapports ont été énoncés. Au Congrès, outre les Russes, 133 personnes ont pris part, représentant toutes les nations slaves.

Les rapports qui étaient à un haut degré scientifiques ont provoqué de vives discussions et ont attiré un nombreux public.

Pendant le Congrès, nos hôtes ont été invités, le 24, à un banquet donné à Resursa Obywatelska par la Soc. Botanique. Le 25/6 ils ont assisté à des spectacles donné dans les différents théâtres de la ville.

Le 26/6, Mr le Président de la République Polonaise a offert au château le thé à nos hôtes. Ceux-ci ont visité pendant le Congrès les monuments de Varsovie, certaines institutions scientifiques, les parcs et Wilanów. Plus d'un journal scientifique a dédié son numéro au III Congrés des botanistes slaves. Ces numéros ont été gratuitement offerts à tous les participants étrangers au Congrès.

Le 25/6 le Congrès a été officiellement fermé. Le même soir après les adieux sincères des botanistes polonais, une partie des participants étrangers sont partis pour une excursion de quatre jours, sous la direction de Mr le conseiller J. Kloska. Cette excursion, à laquelle ont pris part 15 personnes, a visité Gdynia, Hel, Kartuzy, ses environs, ainsi que les réserves forestières, puis Poznań et ses environs (Kórnik, Rogalin) et Kraków ou l'excursion pris fin.

S. D.

Polska bibliografja botaniczna.
(Bibliographie botanique polonaise).

1925.
(Dokończenie — Fin).

Botanika Ogólna (Anatomja, Morfologja, Fizjologja)
(Botanique générale [Anatomie, Morphologie, Physiologie]).

371. **Rouppert, K.** Beitrag zur Kenntniss der rhytmischen Zonenbildung und der pflanzlichen Membranen. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Sèrie B. Année 1925 (1925), pag. 785—800. Pl. 48.

372. **Tondera F.** Über die Ursache der geotropischen Krümmungen der Wurzel. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1925 (1925), pag. 778—789. Pl. 47.

Genetyka i Cytologja
(Génétique et Cytologie).

373. **Lubliner, K.** Recherches sur le développement de l'ovule et de la graine dans le genre *Podophyllum*. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1925 (1925), pag. 379—402. Pl. 17—19.

374. **Moldenhawer, C.** Études sur le croisement de Raphanus avec Brassica. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1925 (1925), pag. 537—560. Pl. 26—29.

Geobotanika, Socjologja, Florystyka
(Géobotanique, Sociologie, Flore).

375. **Kulesza, W.** Malina Moroszka *(Rubus chamaemorus)* na wrzosowisku Bielawskiem. *(Rubus chamaemorus* sur la bruyère de Bielawa). — Ochrona Przyrody. T. V. (1925), pag. 68—72. Fig. 12, 13.

376. **Nowiński, M.** Die geobotanischen Verhältnisse am südöstlichen Rande des Sandomirer Urwaldes. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1925 (1925), pag. 729—750. Pl. 37—40.

377. **Pawłowski, B.** Über die subnivale Vegetationsstufe im Tatragebirge. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1925 (1926), pag. 770—775.

378. **Szulczewski, J. W.** Brzęk *(Pirus torminalis)* w Wielkopolsce. *(Pirus torminalis* en Grande Pologne). — Ochrona Przyrody. T. V. 1925, pag. 48—49.

379. **Wodziczko, A.** Stanowiska brzozy niskiej *(Betula humilis)* w Wielkopolsce i jej ochrona. (Les stations de *Betula humilis* en Grande Pologne et leur protection). — Ochrona Przyrody. T. V. (1925), pag. 50—55.

Paleobotanika
(Paléophytologie).

380. **Lilpop, J.** Flora międzylodowcowa z pod Włodawy nad Bugiem. (The interglacial flora of Włodawa on the Bug). — Spraw. Pol. Inst. Geolog. T. III. 1925 (1925), pag. 238—244 (Résumé anglais).

381. **Lilpop, J. i Passendorfer, E.** O utworach interglacjalnych pod Sulejowem nad Pilicą. (The interglacial formations near Sulejów on the Pilica). — Spraw. Pol. Inst. Geol. T. III 1925 (1925), pag. 145—149. Fig. 1. (Résumé anglais).

382. **Premik, J. i Zabłocki, J.** Zamites gigas Lindley et Hutton var. Feneonis Brongn. sp. z sekwanu górnego okolic Sulejowa nad Pilicą. (Zamites gigas Lindley et Hutton var Feneonis Brongn. sp. du séquanien supérieur des environs de Sulejów sur la Pilica). — Spraw. Pol. Inst. Geolog. T. III, 1925 (1925), pag. 129—135. fig. 1, pl. 6.(Résumé français).

383. **Szafer, W.** Zur Frage der Vielgestaltigkeit, Herkunft, sowie des Aussterbens von *Brasenia purpurea* im europäischen Diluwium. — Festschrift Carl Schröter, Veröffentl. Geobot. Inst. Rübel in Zürich. 3 Heft. Zürich 1925. pag. 493—509.

384. **Szafer. W.** Über den Charakter der Flora und des Klimas der letzten Interglazialzeit bei Grodno in Polen. — Bul. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1925 (1925), pag. 751—768, tab. 1—4. Fig. 1—5.

Glony
(Algues).

385. **Liebetanz, B.** Hydrobiologische Studien an kujawischen Brackwässern. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1925 (1925), pag. 1—116. Pl. 1—5.

386. **Wołoszyńska, J.** Notatki algologiczne (Algologische Notitzen). — Spraw. Stacji hydrobiol. na Wigrach. T. I. (1925), pag. 1—2. Fig. 2. (Résumé allemand).

1926.

Botanika Ogólna (Anatomja, Morfologja, Fizjologja)
(Botanique générale [Anatomie, Morphologie, Physiologie]).

1. **Golińska, J.** Parę spostrzeżeń o wykształceniu dzióbka (rostrum) w łuszczynach kapusty. (Quelques remarques sur le développement du rostrum des fruits du chou). — Ogrodnictwo. T. XXII. (1926). Fig. 1—2. Tab. 1—2.

2. **Kudelka, Wł.** Mięta pieprzowa. Studjum botaniczne. *(Mentha piperita.* Etude botanique). — Kosmos, LI. Rocznik (Année) 1926 pag. 139—176. Pl. I—III. (Résumé allemand).

3. **Kawecka, B.** Über die Verenderlichkeit des Pollens bei einigen Oenotheren. Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1926 (1926), pag. 329—360.

4. **Stelmach, M.** Die Regulation der Substrataciditât durch zwei Torfmoose *(Sphagnum recurvum* P. Beauv und *Sph. cymbifolium* Ehrh.). — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1926 (1926), pag. 315—328.

5. **Szymkiewicz, D.** Badania ekologiczne nad górskiemi roślinami. (Etudes écologiques sur les plantes alpestres). — Kosmos, LI. Rocznik (Année) 1926 (1926), pag. 1—34. Fig. 1 (Résumé français).

6. **Szafer, W.** Jak powstał kwiat w przyrodzie. Odczyt wygłoszony na publicznem posiedzeniu Polskiej Akademji Umiejętności dn. 16 czerwca 1926. (Sur la naissance de la fleur dans la nature). — Conférence à la session publique de l'Académie Polonaise des Sciences 16 Juin 1926. Kraków (Cracovie) 1926.

7. **Hołyński, St.** Biochemiczne metody określenia potasu, fosforu i azotu, pobieranych z gleb. (Cz. I. Metoda Neubauera i Schneidera, Studjum krytyczne. (Sur les méthodes biochimiques de la détermination dans les sols de potassium, de phosphore et d'azote assimilables. I. Sur la méthode des M. M. Neubauer et Schneider). — Pam. Inst. Puław. T. VII. 7926, pag. 245—259. Fig. 1. Tab. 1—5. (Résumé français).

8. **Kwieciński, R.** Kultury owsa na dwucyandwuamidzie i metoda wyodrębniania dwucyandwuamidu z roślin. (Les cultures d'avoine sur le dicyandiamide et la méthode d'extraction du dicyandiamide des plantes). — Pam. Inst. Puław. T. VII. (1926), pag. 205—217. Fig. 1—8. (Résumé français).

9. **Koehler, S.** Sur les composés phosphorés des plantes. I. La solubilité et la répartition des composés phosphorés contenus

dans les semences. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1926 (1926), pag. 707—848.

10. **Lemańczyk, K.** Über die Absorbtion der Kalisalzen durch das Wurzelsistem der Pflanze. Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1926 (1926), pag. 1109—1155.

11. **Leszczenko, P.** Wpływ odczynu środowiska na kiełkowanie zarodników *Verticillium alboatrum* R. et B. i *Ustilago maidis* Tul. (On the influence of the reaction of the medium on germination of spores of...) — Pam. Inst. Puław. T. VII. 1926, str. 402—435, tab. 1—13.

12. **Lewoniewska, St.** Działalność różnych nawozów fosforowych na plon i skład owsa. (Influence de différents engrais phosphatés sur la récolte et la composition de l'avoine). — Pam. Inst. Puław. T. VII. (1926), pag. 463—475. Tab. 1—4. (Résumé français)

13. **Lindenbaum, S.** Sur les composés phosphorés des plantes. III. Sur la solubilité des composés phosphorés de la farine d'avoine et sur la faculté de l'acide phytique de se combiner avec les substances protéiques qu'elle contien. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1926 (1926), pag. 1041—1098.

14. **Łukaszewicz, J.** Über das Vorkommen von Kalium in manchen pflanzlichen Gebilden. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1926 (1926), pag. 559—578. Pl. XV.

15. **Michalica, J.** Przyczynek do badań nad zdolnością pobierania i wykorzystania przy kiełkowaniu hygroskopowej wilgoci z atmosfery przez ziarna żyta, pszenicy, jęczmienia i owsa. (Contribution à l'ètude de l'aptitude des grains de seigle, de froment, d'orge et d'avoine pour prendre et tirer profit de l'humidité hygroscopique de l'atmosphère, pendant la germination). — Roczn. nauk roln. i leśnych. T. XV (1926), pag. 407—423. (Résumé allemand).

16. **Mnikowska, S.** Sur les composés phosphorés des plantes. II. De la solubilité des composés phosphorés de la farine d'orge. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1926 (1926), pag. 1006—1040.

17. **Pietruszyński, Z.** Niektóre zjawiska przy dojrzewaniu ziarn zbóż po zbiorze. (Über einige Erscheinungen während der Nachreife von Getreidearten). — Roczn. nauk roln. i leśnych. T. XV. (1926), pag. 206—235. Tab. 1—9. (Résumé allemand).

18. **Vorbrodt, Wł.** Sur l'élaboration de l'azote dans le mycélium de l'Aspergille *(Aspergillus niger)*. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1926 (1926), pag. 517—534.

19. **Vorbrodt, Wł.** Sur les composés phosphorés des plantes. IV. Sur les composés du mycélium de l'Aspergile *(Aspergillus niger)*. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1926 (1926), pag. 1099—1108.

20. **Zaleski, L.** Superfosfat jako bodziec wzrostu. (Le superphosphate comme stimulant de la croissance). — Pam. Inst. Puław. T. VII. (1926), pag. 218—243. Fig. 1—3, tab. I—IX.

21. **Zaleski, L.** Wpływ kwasu węglowego na buraki i na niektóre inne rośliny uprawne. (Influence de l'acide carbonique sur les betteraves et sur certaines autres plantes cultivées). — Pam. Inst. Puław. T. VII (1926), pag. 373—401. Tab. 1—8. (Résumé français).

Cytologia — Genetyka
(Cytologie — Génétique).

22. **Niewiarowicz, L.** Doświadczenia nad chowem krewniaczym żyta. (Les expériences faites sur la parenté du seigle). — Roczn. nauk roln. i leśn. T. XV (1926) pag. 554—585. Pl. 1. Résumé français).

23. **Wóycicki, Z.** Grains de pollen, tubes polliniques et spermatogenèse chez *Haemanthus Katharinae* Bak. II. — Bull. Acad. Pol. Sc. Lettres. Série B. Année 1926 (1926), pag. 535—557. (Pl. 6. 11—14).

Geobotanika, Socjologja, Florystyka
(Géobotanique, Sociologie, Flore).

24. **Czeczott, H.** The Atlantic element in the flora of Poland. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. 1926 (1926), pag. 361—407. Mapy (cartes) 1—53. Tab. I—III.

25. **Koczwara, M.** O zjawisku dysjunkcji pozornej. Z zagadnień genetycznej geografji roślin. (Sur le phénomène de la disjonction apparente. Un problème de la phytogéographie génétique). — Kosmos, LI. Rocznik (Année) 1926 (1926), pag. 35—45. (Résumé allemand).

26. **Koczwara, M.** Przyczynek do znajomości owsów Polski. (Contribution à la connaissance des avoines de la Pologne). — Kosmos, LI. Rocznik (Année) 1926, pag. 35 - 54. (Résumé allemand).

27. **Kołodziejczyk, J.** Osobliwości przyrody Świtezi nowogródzkiej. (Les particularités naturelles du lac Świteź de Nowogródek). — Ochrona Przyrody. T. VI. (1926), pag. 52—63. Fig. 2—4. Pl. IX—X.

28. **Kozłowska, A.** Rezerwat stepowy w Jaksicach w ziemi Miechowskiej. (Réserve steppique à Jaksice, distr. de Miechów). — Ochrona Przyrody. T. VI. (1926), pag. 68—72. Fig. 5—7, pl. IX.

29. **Motyka, J.** Die Pflanzenassoziationen des Tatragebirges. VI Teil. Studium über epilithische Flechtengesellschaften. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1926 (1926), pag. 189—228.

30. **Nowiński, M.** Las klasztorny pod Leżajskiem. (Forêt du cloître près de Leżajsk). — Ochrona Przyrody. T. VI. (1926), pag. 75—79. Pl. XII.

31. **Szafranówna, H.** Łąki nad ujściem Piaśnicy. (Les prairies près de l'embouchure de Piaśnica). — Ochrona Przyrody. T. VI. (1926), pag. 85—86. Fig. 8.

32. **Wierdak, Sz.** Zapiski florystyczne z Opola. (Notes floristiques d'Opole). — Kosmos. LI. Rocznik (Année) 1926 (1926), pag. 55—61. Pl. 1. (Résumé allemand).

33. **Włodek, J. i Strzemieński, K.** Stężenie jonów wodorowych w glebach Doliny Chochołowskiej, a zespoły roślinne. (Concentration en ions hydrogène les sols et les associations végétales dans la Dolina Chochołowska. (Montagnes du Tatra). — Roczn. nauk roln. i leśnych. T. XV. (1926), pag. 321—348. Pl. 1.

34. **Wodziczko, A.** Ochrona pierwotnej szaty roślinnej na Pomorzu. (Protection de la flore primaire en Poméranie). — Ochrona Przyrody. T. VI. (1926), pag. 35—50.

35. **Ostrowski, St.** Narośla (cecidia) zebrane na roślinach w okolicach Wilna i Grodna. (Les cécidies trouvées sur les plantes des environs de Wilno et de Grodno). — Kosmos. LI. Rocznik (Année) 1926 (1926), str. 62—74. (Résumé français).

Paleobotanika
(Paleophytologie).

36. **Kozłowska, A.** Zur Frage des Vorkommens der Gattung Tsuga im polnischen Interglacial. — Österreichische Bot. Zeitschr. T. LXXV. 1925 (1926), pag. 42—46. Fig. 1—3.

37. **Szafer, W.** O florze i klimacie okresu międzylodowcowego pod Grodnem. — Spraw. Kom. Fizjogr. P. A. U. T., LX. 1925 (1926), pag. 1—40. Fig. 1—5. Tab. I—IV. (voir. No. 384).

38. **Szafran, B.** Der Bau und das Alter des Moores von Pakosław bei Iłża in Mittel-Polen. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Année 1925 (1926), pag. 751—768. Tabl. 41—46.

Kryptogamy
(Cryptogames cellulaires).

39. **Rypowa, H.** Glony jeziorek torfowcowych, t. zw. „Sucharów“ w okolicach Wigier. (Les algues des petits lacs tourbeux, nommés „Suchary“, dans les environs du lac Wigry). — Arch. hydrob. i rybactwa. T. I. (1926), pag. 41—66, fig. 1—7, pl. I—IV. (Résumé français).

40. **Starmach, K.** Niektóre rzadsze krasnorosty w okolicy Wejherowa na Pomorzu i w Beskidzie Magórskim. (Über das Vorkommen einiger Florideen bei Wejherowo (Neustadt) in Pommern und in den

Westbeskiden). — Spraw. Kom. Fizjogr. P. A. U., T. LXI. (1926) 1927, pag. 107—112. Fig. 1. (Résumé allemand).

41. **Szakien, B.** Przyczynek do znajomości rdzy Wileńszczyzny i Grodzieńszczyzny. (Un aperçu sommaire des connaissances de la rouille de l'arrondissement de Wilno et Grodno). Kosmos, LI. Rocznik (Année) 1926 (1926), pag. 75—138. (Résumé français).

42. **Wisłouch, St.** O letnim fitoplanktonie jezior Wigierskich. (Über das sommerliche Phytoplankton der Wigry-Seen). — Arch. hydrob. i rybactwa. T. I. (1926), pag. 79—110, fig. 1—5. (Résumé allemand).

43. **Fełenczak, W.** Grzyby podkarpackie okolic Dukli. (Pilze der Umgebung von Dukla (Karpathen). — Spraw. Kom. Fizyogr. P. A. U., T. LXI. 1926 (1927), pag. 167—187. (Résumé allemand).

44. **Motyka, J.** Materjały do flory porostów Tatr. Część II. (Addenda ad floram lichenum montium Tatrensium. Pars II). — Spr. Kom. Fizjogr. P. A. U., T. LXI. 1926 (1927), pag. 1—16.

Botanika stosowana
(Botanique appliquée).

Leśnictwo — (Botanique forestière).

45. **Jedliński, Wł.** O pasie bezświerkowym na ziemiach Polski i jego znaczeniu hodowlanem. (Etude du terrain dépourvu de l'épicéa en Pologne et sa valeur pour l'entretien des forêts). — Las Polski. T. VI. (1926), pag. 12, mapa (carte) 1.

46. **Jedliński, Wł.** Wpływ masywów fizycznych i roślinnych na hodowlaną wartość siedliska, oraz na naturalne kształtowanie się typów drzewostanów i na naturalne rozsiedlenie się rodzajów drzewa. (L'influence des massifs physiques et des massifs de plantes sur la valeur de la station pour le développement des forêts, ainsi que sur la formation naturelle des types forestiers et la distribution des genres d'arbres). — Las Polski, T. VI. (1926).

47. **Kucharski, A.** Zmiana warunków siedliskowych i szaty roślinnej ze zmianą terenu prostopadle do rzeki Hwoźnej w Nadleśnictwie Rezerwat w Puszczy Białowieskiej. (Changement des conditions de la station et de la flore par rapport au changement du terrain, verticalement à la rivière Hwoźna dans le district forestier dit „la Réserve“ de la forêt vierge de Białowieża). — Roczn. nauk roln. i leśnych. T. XV. (1926), pag. 371—388. Pl. 1—8.

48. **Niedziałkowski, W.** Asocjacja leśna i jej wartość dla leśnictwa. (L'association forestière et sa valeur pour la forêt). — Las Polski. T. VI. 1926.

49. **Suchocki, St.** *Pseudotsuga Douglasii* i dotychczasowe wyniki jej aklimatyzacji w Poznańskiem. *(Pseudotsuga Douglasii* et son acclimatation dans la voïvodie de Poznań). — Roczn. nauk roln. i leśnych. T. XV. (1926), pag. 150—205. Tab. 1—13. (Résumé allemand).

50. **Stecki, K. i Kulesza, W.** Z osobliwości dendrologicznych Wielkopolski. (Les particularités dendrologiques en Grande Pologne). Roczn. nauk roln. i leśnych. T. XV. (1926), pag. 261—268.

Ogrodnictwo
(Horticulture)

51. **Golińska, J.** Badania nad owocowaniem bobu (*Vicia faba major)*. (Recherches sur la fructification de la fève). — Roczn. nauk roln. i leśnych. T. XV. (1926), pag. 528, fig. 1—3, tab. 1—9. (Résumé anglais).

52. **Gorjaczkowski, Wł.** Charakterystyka odmian dzikich grusz i jabłoni na podstawie liczby nasion i komór w poszczególnych owocach. (Traits caractéristiques des variétés de poiriers et de pommiers sauvages sur la base du nombre des graines et des loges dans chaque fruit. — Doświadczalnictwo Rolnicze. T. I. (1926), pag. 3—31, fig. 7. (Résumé anglais).

53. **Kaznowski, L.** Studja nad grochem *(Pisum* L.). Recherches sur le pois *(Pisum* L.). — Pam. Inst. Puławskiego. T. VII (1926), pag. 1—92, fig. 1—10. Tab. I—XXVI. (Résumé français).

54. **Kisza, P.** Samozapylenie i krzyżowanie u niektórych odmian grusz. (Pollinisation directe et croisement chez certaines variétés de poiriers). — Ogrodnictwo. T. XXII (1926). Tab. 1—2.

55. **Kotowski, F.** O powstawaniu bulwek u pędów świetlnych ziemniaka. (La formation des bulbilles sur les pousses vertes de la pomme de terre). — Ogrodnictwo. T. XXII. (1926).

56. **Malawski, H.** Badania doświadczalne nad łubinem, jako paszą. (Experimental studies on the lipine as a foot-stuff). — Pam. Inst. Puław. T. VII. (1926), pag. 294—332, Fig. 1, Tab. 1—11. (Résumé anglais).

57. **Poniatowska, H.** Kiełkowanie nasion pomidorów w soku owocowym tejże rośliny. (La germination des graines de tomates dans le suc du même fruit). — Ogrodnictwo. T. XXII. (1926).

58. **Ruebenbauer, Z.** Wpływ przestrzeni pod krzakiem na plon i zmienność indywidualną ziemniaków. (Influence de l'espace sous une plante sur le produit et la variété individuelle des pommes de terre). — Roczn. nauk roln. i leśnych. T. XV. (1926), pag. 206—235, tab. 1—9. (Résumé allemand).

1927.

Botanika ogólna (Anatomja, Morfologja, Fizjologja)
(Botanique générale (Anatomie, Morphologie, Physiologie)

1. **Karpowicz, W.** Studien über die Entwicklung des Prothalliums und der ersten Sporophytblätter der einheimischen Farnkräuter (Polypodiaceae). — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1927 (1927), pag. 1—26. Pl. 1—12.

2. **Koeler, Z.** O rozpuszczalności związków fosforowych w nasionach roślin. (Sur la solubilité des composés de phosphore dans les semences des plantes). — Roczn. chemji. T. 7 (1927), pag. 692—706. Tab. I—X.

3. **Kotowski, F.** Wpływ temperatury na kiełkowanie i wzrost roślin. (The temperature relations in germination of vegetable seeds). — Roczn. nauk roln. i leśnych. T. XVII (1927), pag. 397—406. (Résumé anglais).

4. **Kwieciński, R.** Dalsze studja nad wpływem dwucyandwuaminu na rośliny. (Recherches sur l'influence du dicyandiamine exercée sur les plantes. II). — Pam. Inst. Puław. T. VIII A. 1927, pag. 131—136. Tab. 1—3. Pl. 1. (Résumé français).

5. **Lipska, I.** Badania nad warunkami powstawania skrobi w pleśniach, w szczególności u *Citromyces glaber* (Wehm.). (Recherches sur la formation de l'amidon chez les moisissures, notamment chez *Citromyces glaber*). — Pam. Inst. Puław. T. VIII A. 1927, pag. 549—587. (Résumé français).

6. **Listowski, A.** Über den Einfluss verschiedenfarbigen Lichtes auf die Keimung der Sporen und Entwicklung der Protonemen. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1927, (1927), pag. 613—666.

7. **Maleszewski, St.** Przyczynek do znajomości dioecji. (Beitrag zur Kenntniss der Diözie). — Kosmos LII. Rocznik (Année) 1927, pag. 448—451. (Résumé allemand).

8. **Miczyński, K.** O działaniu odczynnika Unverdorben-Franchimont'a i niektórych innych związków na kryształy szczawianu wapnia w roślinach. Rozpr. Wydz. mat.-przyr. P. A. U. Ser. III. T. 23/24, Dz. A/B 1923/24 (1927), pag. 285—298. Pl. 6—7. (Voir Nr. 328/1924).

9. **Płoski, W.** Sur la teneur constante du Stramoine *(Datura stramonium* L. v. *inermis)* en alcaloïdes. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres, Série B. Année 1927 (1927), pag. 397—401. Tab. 3.

10. **Płoski, W.** Wpływ różnych czynników na gromadzenie się alkaloidów w liściach bielunia podwórzowego *(Datura stramonium* var. *inermis)*. (De l'influence de divers agents sur l'accumulation des alcaloïdes dans les feuilles de *Datura stramonium* var. *inermis*. Pam.

Inst. Puław. T. XVI A 1926/27, pag. 186—216. Tab. 1—6. (Résumé français).

11. **Poniatowska, H.** Przyczynek do poznania przebiegu pobierania pokarmów azotowych przez Cykorję i jej wymagań nawozowych. (Beiträge zur Kenntniss der Nährstoffaufnahme der Zichorie und ihrer Düngungsbedürfnisse). — Roczn. nauk roln. i leśnych. T. XVII (1927), pag. 192—222. Tab. 1—15, fig. 1—2. (Résumé allemand).

12. **Protowa, Z.** Przyczynek do znajomości oddychania u kropidlaka. — Rozpr. Wydz. mat.-przyr. P. A. U., Ser. III. T. 23/24 Dz. A/B 1923/24 (1927), pag. 131—158. Tab. I—XIV. (Voir Nr. 336/1924).

13. **Vorbrodt, Wł.** O przeróbce azotu w grzybni kropidlaka *(Aspergillus niger).* (Sur l'élaboration de l'azote dans le mycélium de l'Aspergille). — Kosmos LII. Rocznik (Année) 1927, pag. 431—447. (Résumé français).

14. **Zaleski, L.** O wędrowaniu mineralnych składników pokarmowych podczas wzrostu rośliny. (Sur la migration des principes nutritifs minéraux pendant la croissance de la plante). — Pam. Inst. Puław. T. VIII A. 1927, pag. 239—294, fig. 1—6. Tab. 1—12. (Résumé français).

Cytologja — Genetyka
Cytologie — Génétique.

15. **Falkowska, H.** Badania nad mieszańcami bobu z bobikiem. (Recherches sur les hybrides de la fève et de la fèverole. — Roczn. nauk roln. i leśnych. T. XVIII (1927), pag. 415—448, fig. 1—11. Tab. 1—2. (Résumé français).

16. **Luxemburg, A.** Recherches cytologiques sur les grains de pollen chez les Malvacées. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1927 (1927), pag. 363—396. Pl. 30—33.

17. **Mazurkiewicz, Z.** Zmienność w czystych linjach i w populacji pszenicy jarej. (Variabilitätsverhältnisse in den reinen Linien und in der Population des Sommerweizens). — Roczn. nauk roln. i leśnych. T.XVII. (1927), pag. 115—158. Tab. 1—15, fig. 1—2. (Résumé allemand)

18. **Piech**, et **K. Moldenhawer, C.** Zitologische Untersuchungen an Bastarden zwischen *Raphanus* und *Brassica.* — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1927 (1927), pag. 27–38. Pl. 13.

19. **Wóycicki, Z.** Über die Zahl und Form der Chromosomen bei *Chaemanthus Katharinae.* — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres, Série B. Année 1927 (1927), pag. 611–630.

20. **Smólska, A.** Die Entwicklung des Archegoniums und der Befruchtungsprozess bei *Larix europaea.* — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1927 (1928), pag. 993–1036. Pl. 82—85.

Geobotanika, Socjologja, Florystyka
(Géobotanique, Sociologie, Flore)

21. **Flora Polska.** Rośliny naczyniowe Polski i ziem ościennych. T. III. Dwuliścienne wolnopłatkowe: Dwuokwiatowe. Cz. I. (La flore de la Pologne. Les plantes vasculaires de la Pologne et des pays limitophes. Vol. III. Dicotyledones: Diapetalae). Pod redakcją Władysława Szafera opracowali: Stanisław Kulczyński, Józef Paczoski i Bogumił Pawłowski. Kraków, nakładem Polskiej Akademji Umiejętności. 1927, pag. 1—169, fig. 1—16.

22. **Juraszek, H.** Pflanzensoziologische Studien über die Dünen bei Warschau. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1927 (1927), pag. 565—610. Tab. 1—9.

23. **Koczwara, M.** Zapiski florystyczne z Podola pokuckiego. (Floristische Notizen aus Südpodolien. — Spraw. Kom. Fizjogr. Pol. Ak. Um. T. LXI, 1926 (1927), pag. 217—221. (Résumé français).

24. **Koczwara, M.** *Thymus odoratissimus* M. B., nowy składnik flory Polski. (*Thymus odoratissimus* M. B., ein neuer Bürger der Flora von Polen). Kosmos LII. Rocznik (Année) 1927, pag. 558—561. (Résumé allemand).

25. **Koczwara, M.** Rozwój polodowcowej flory i klimatu Podola w świetle analizy pyłkowej. (The development of post-glacial flora and the climate of Podolia in the light of analysis of pollen). — Prace geograficzne, zesz. (livraison) 9, 1927 (1927), pag. 41—60, diagr. 12—18 (Résumé anglais).

26. **Kulczyński, St.** Borealny i arktyczno-górski element we florze Europy środkowej. — Rozpr. Wydz. mat.-przyr. P. A. U., Ser. III, T. 23/24 Dz. A/B 1923/24 (1927), pag. 1—96, mapy (cartes) 1—41. Tab. I (Voir Nr. 321/1924).

27. **Kulesza. W.** Modrzew polski na górze Chełmowej i w Majdowie pod Skarżyskiem. (Le mélèze polonais sur le mont Chełmowa et à Majdów près Skarżysko). — Sylwan. Rocznik (Année) XLIV, 1927.

28. **Mierzejewski-Szeliga, Wł.** *Nasturcium officinale* R. Br., Rukiew lekarska lub zdrojowa z okolic Wilna. (*Nasturcium officinale* R. Br. aus der Umgebung von Wilno). Kosmos LII. Rocznik (Année) 1922, pag. 452—455. (Résumé allemand).

29. **Motyka, J.** Studja nad modrzewiowemi zespołami w lasach okolic Grybowa. (Études sur les associations des lichens établies

sur les troncs des arbres aux environs de Grybów). — Sylwan. Rocznik XLIV, 1927.

30. **Nowiński, M.** Zespoły roślinne Puszczy Sandomierskiej. I. Zespoły roślinne torfowisk niskich pomiędzy Chudaczowem a Grodziskiem. (Les associations végétales de la Grande Forêt de Sandomierz. I. Les associations végétales des basses tourbières entre Chodaczów et Grodzisko). Kosmos LII. Rocznik (Année) 1927, pag. 457—546. Tab. I—XIX, Pl. I—XIV, mapa (carte) 1. (Résumé allemand).

31. **Piech, K.** *Festuca montana* M. B i e b. (= *F. drymea* M. et K.) w Polsce. [*Festuca montana* M. B i e b. (= *F. drymea* M. et K.) in den Polnischen Beskiden]. — Spraw. Kom. Fizjogr. P. A. U., T. LXI. 1926 (1927), pag. 189—191. (Résumé français).

32. **Rudomski, J.** Notatki o niektórych rzadszych roślinach w powiecie niżańskim (Puszcza Sandomierska). [Notitzen über manche seltene Pflanzen im Bezirk Nisko (Sandomierer Urwald)]. — Kosmos LII. Rocznik (Année) 1927, pag. 553—557. (Résumé allemand).

33. **Szafer, Wł.** On the statistics of flowering plant associations. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1927 (1927), pag. 149—160.

34. **Szafer, Wł.** Życie kwiatów (Zarys biologji kwiatów). (La vie des fleurs. Esquisse de la biologie des fleurs). — Monografje i podręczniki wydawane przez K. S. Jakubowskiego we Lwowie pod redakcją Stefana Wierczyńskiego. T. I. 1927, pag. VIII + 190, fig.1—42. Pl. I—X.

35. **Szafer, W., Kulczyński, St., Pawłowski, B.** Zespoły roślin w Tatrach, Cz. I. Zespoły w dolinie Chochołowskiej. — Rozpr. Wydz. mat.-przyr. P. A. U., Ser. III. T. 23/24, Dz. A/B, 1923/24 (1927), pag. 203—284, Tab. I—XV. Pl. 1—4, mapa (carte) 1 (voir Nr. 294/1923).

36. **Szafer, W., Kulczyński, St., Pawłowski, B , Stecki, K., Sokołowski, M.** Die Pflanzenassoziationen des Tatragebirges. III, IV und V Teil. — Bull. Acad. Pol. Sc. Lettres. Série B, Année 1926 (1927), Nr. Supplémentaire II. pag. 1—144. Pl. I—XII.

37. **Szafran, B.** Budowa i wiek torfowiska w Pakosławiu pod Iłżą. (Bau und Alter des Torfmoores von Pakosław bei Iłża in Polen). — Spraw. Kom. Fizjogr. P. A. U., T. LXI, 1926, pag. 17—34, tab. 1—6, Cracovie 1927.

38. **Tołpa, St.** Analiza pyłkowa torfowiska w Janowie na Roztoczu. (Pollenanalytische Studien über Janower-Torfmoor). Kosmos LII, 1927, str. 547—552. (Résumé allemand).

39. **Zaleski, K.** Uber die in Polen gefundenen Arten der Gruppe *Penicilium* Link. I—II Teil. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1927 (1927), pag. 417—498.

40. **Zaleski, K.** Über die in Polen gefundenen Arten der Gruppe *Penicilium* Link. III. Teil. — Bull. Acad. Pol. Sc. et Lettres. Série B. Année 1927 (1927), pag. 515—564.

Botanika stosowana.
(Botanique appliquée).

Leśnictwo — (Botanique forestière).

41. **Hausbrandt, J.** Kilka spostrzeżeń nad zmianami kwasowości gleb leśnych w gospodarstwie zrębowem. (Quelques remarques sur les changements du sol forestier à la suite du défrichement). — Las Polski. T. VI (1926).

42. **Jedliński, Wł.** Wyniki dalszych badań tak zwanego pasa bezświerkowego w Polsce. (Les résultats des recherches dans la bande dépourvue d'épicéa en Pologne). — Las Polski. T. VII (1927), pag. 81—92, mapa (carte) 1.

43. **Miechowicz, J.** Typy drzewostanów podług Morozowa i ich znaczenie w urządzaniu lasów. (Les types des forêts selon Morozoff et leur rôle dans l'aménagement des forêts. — Las Polski. T. VII (1927).

44. **Płoński, Wł.** Z badań nad wpływem wysokości absolutnej na zamożność drzewostanów. (Recherches sur l'influence de l'altitude sur la production du bois). — Sylwan. Rocznik (Année) XLV 1927, pag. 15—20, fig. 1—2 (Résumé allemand).

45. **Płoński, Wł.** Wpływ usuwania t. zw. borowiny na rozwój drzewostanów jodłowych. (L'influence de l'enlèvement du sol tourbeux sur le développement des forêts de sapins). — Sylwan. Rocznik (Année) XLV (1927), pag. 301—316, fig. 1—5. (Résumé allemand).

46. **Puzynowski, J.** Postulaty ochrony lasów nad Świtezią. L'exigence de la protection des forêts sur le lac Świteź). — Las Polski. T. VII (1927), pag. 338—343.

47. **Senczyna, E.** Przyczyna wymierania świerka w lasach Korczyńskich nad Stryjem. (Les causes de la disparition de l'épicéa dans les forêts de Korczyn). Sylwan. Rocznik (Année) XLV, (1927), pag. 52—54.

48. **Wierdak, Sz.** Nieco o rozsiedleniu limby w Karpatach Wschodnich. (La répartition du pin dans les Carpathes Orientales). — Sylwan. Rocznik (Année) XLV, (1927), pag. 201—207, mapa (carte) 1.

49. **Wierdak, Sz.** O kresowych stanowiskach naszych drzew. (Les stations extrêmes de nos arbres). — Sylwan. Rocznik (Année) XLV, (1927).

50. **Wierdak, Sz.** Rozsiedlenie świerka, jodły i buka w Małopolsce. (La distribution de l'epicéa, du sapin et du hêtre dans la Petite Pologne). — Sylwan. Rocznik (Année) XLV, (1927), pag. 23, fig. 1—3, mapa (carte) 1.

51. **Włoczewski, T.** Warunki siedliskowe nadleśnictwa Zielonki. (Die Standortsbedingungen der Oberförsterei Zielonka). — Roczn. nauk roln. i leśnych. T. XVIII (1927), pag. 181—192, mapa (carte) 1.

Rolnictwo i ogrodnictwo
Agriculture et Horticulture).

52. **Breza, W.** Wpływ różnych nawozów na wysokość i skład plonów niektórych roślin uprawnych. (Influence de différents engrais sur le rendement et la composition chimique de certaines plantes cultivées). — Pam. Inst. Puław. T. VIII A. 1927 (1926), pag. 1—74. Tab. 1—35. (Résumé français).

53. **Celichowski, A. i Kuryłło, A.** Przyczynek do badań raka ziemniaczanego. Z doświadczeń wazonowych nad odpornością ziemniaków przeciwko rakowi ziemniaczanemu. (Ein Beitrag über den Kartoffelkrebs). — Roczn. nauk roln. i leśnych. T. XVIII (1927), pag. 173—180, fig. 1—3.

54. **Fedziuszko, M.** Wpływ rozmaitych środków do zaprawiania ziarna na jego kiełkowanie. (Influence de divers liquides désinfectants sur la germination des graines). — Roczn. nauk roln. i leśnych. T. XVIII, (1927).

55. **Golonka, Z.** Odczyn gleby a współzawodnictwo roślin. (Soil reaction and plant competition). — Pam. Inst. Puław. T. XVI. 1926/27, pag. 27—41, fig. 1, Tab. 1—3. (Résumé anglais).

56. **Golonka, Z.** Łąki i pastwiska południowo-wschodniej części dorzecza Bzury (powiat Skierniewicki). Die Wiesen in dem südöstlichen Teile des Bzura Gebietes). — Pam. Inst. Puław. T. XVI 1926/27, pag. 257—339, mapa (carte) 1. Pl. 1—2. (Résumé allemand).

57. **Kotowski, F.** Wpływ zmiennych temperatur na kiełkowanie nasion. (Temperature alternation and germination of seeds). — Roczn. nauk roln. i leśnych. T. XVIII (1927), pag. 161—178. Tab. 1—3. (Résumé anglais).

58. **Kotowski, F.** Półprzepuszczalność skórki nasiennej, a zagadnienie stimulacji nasion. (Semipermeability of Seed Coats and stimulation of seeds). — Roczn. nauk. roln. i leśnych. T. XVIII (1927), pag. 50—65. (Résumé anglais).

59. **Kuryłowicz, B.** Studja nad zależnością rozwoju roślin od stanu uwilgocenia gleby w różnych okresach wegetacji. (Untersu-

chungen über die Pflanzenentwicklung in Abhängigkeit von dem Bodenbefeuchtungszustand in verschiedenen Vegetationsperioden). — Pam. Inst. Puław. T. XVI, A 1926/27, pag. 340—410, fig. 16 + 9. (Résumé allemand).

60. **Lewicki, St.** Różnice w biologji zbóż ozimych i jarych. Cz. II. Badanie mieszańców przy uprawie jesiennej. (Différences biologiques entre les blés d'hiver et les blés de printemps: Études sur les hybrides en culture d'hiver). — Pam. Inst. Puław. T. VIII A (1927), pag. 347—416, fig. 1—4, Tab. 1—13. (Résumé français).

61. **Lewicki, St.** Różnica biologji zbóż ozimych i jarych. Cz. I. Badanie mieszańców przy uprawie wiosennej. (Differences biologiques entre les blés d'hiver et les blés de printemps. I partie. Études sur les hybrides en culture de printemps). Pam. Inst. Puław. T. VIII A, (1927), pag. 147—224, fig. 1—11. Tab. 1—14. (Résumé français).

62. **Moldenhaver, K.** O paru ciekawszych krzyżówkach w obrębie rodzaju Brassica. (Sur quelques intéressants croisements dans le genre Brassica). Ogrodnictwo. T. XIII, (1927).

63. **Swederski, W. i Wilczyński, T.** Stężenie jonów wodorowych w glebach połonin Czarnej Hory w Karpatach wschodnich. (Concentration des ions d'hydrogène des sols alpins de la Czarna Hora dans les Carpathes Orientales). — Doświadczal. Roln. T. III, (1927), pag. 78—90. Tab. 1 – 9. (Résumé anglais).

64. **Szafer, W.** Warszewiczia pulcherrima. — Ogrodnictwo. T. XXIII, (1927), fig. 1—2.

65. **Szumiec, St.** Partenokarpia u niektórych odmian grusz. (Parthénocarpie de quelques variétés des poiriers). — Ogrodnictwo. T. XXIII, (1927).

66. **Ziobrowski, St.** Rośliny nazwiskiem Warszewicza oznaczone. (Les plantes dénommées d'après le nom de Warszewicz). — Ogrodnictwo. T. XXIII, (1927).

Różne
(Divers).

67. **Botanika II.** Poradnik dla samouków. T. VII. Wskazówki metodyczne dla studjujących, pod redakcją Stanisława Michalskiego. Wydanie nowe. (Botanique II. Manuel de conseils pour étudiants individuels. T. VII. Indications méthodiques pour les étudiants, redigées par Stanislas Michalski. Nouvelle édition). — Wydawnictwo Kasy imienia Mianowskiego. Warszawa, 1927, pag. 1—757, fig. 1—5· Tab. 1—3.

68. **Bazerewski, St.** Badania nad bakterioidami. (Recherches sur les Bacterioïdes). — Roczn. nauk roln. i leśnych. T. XVII (1927), pag. 1—34. (Résumé français).

69. **Goldmanówna, B.** Bakterje przewodu pokarmowego karasia. *(Carassius carassius* L.). (La microflore du tube digestif du *Carassius carassius).* — Arch. hydrobiol. i rybactwa. T. II. (1927), pag. 183—196. (Résumé français).

70. **Stelmachówna, M.** Regulacja odczynu podłoża przez torfowce. (Die Regulation der Substrataciditāt durch die Torfmoore). — Pam. Inst. Puław. T. XVI B, 1926/27, pag. 173—185 (voir Nr. 4/1926).

Spis członków Polskiego Towarzystwa Botanicznego.
(Liste des membres de la Société Botanique de Pologne).

Członkowie honorowi (Membres honoraires).

1. **Karo** Ferdynand († 1927).
2. **Godlewski** Emil (senior) († 1930).
3. **Paczoski** Józef, dr. h. c., prof. Uniwersytetu, Poznań, Słowackiego 4/6, I. p.
4. **Rostafiński** Józef († 1928).

Członkowie korespondenci zagraniczni (Associés étrangers).

1. **Borodin** Iwan Parfeniewicz, dr., prof. Uniwersytetu w Leningradzie († 1930).
2. **Cajander** Aimo Kaarlo, dr., prof. Uniwersytetu w Helsingforsle.
3. **Chodat** Robert, dr., prof. Uniwersytetu w Genewie.
4. **Domin** Karel, dr., prof. Uniwersytetu w Pradze.
5. **Flahault** Charles, dr., prof. Uniwersytetu w Montpellier.
6. **Györffy** Istvan, dr., prof. Uniwersytetu w Szeged.
7. **Henry** Augustin, dr., prof. Uniwersytetu w Dublinie († 1931).
8. **Holmboë** Jens, dr., prof. Uniwersytetu w Oslo.
9. **Košanin** Nedelyko, dr., prof. Uniwersytetu w Belgradzie.
10. **Kuzniecow** Nikołaj, dr., prof. Uniwersytetu w Leningradzie.
11. **Mangin** Louis Alexandre, dr., prof. Muzeum Narodowego Historji Naturalnej w Paryżu.
12. **Němec** Bohumil, dr., prof. Uniwersytetu w Pradze.
13. **Palmgren** Alvar, dr., prof. Uniwersytetu w Helsingforsie.
14. **Pavillard** Jules Pierre Frédéric, dr., prof. Uniwersytetu w Montpellier.
15. **Petkoff** Stefan, dr., prof. Uniwersytetu w Sofji.
16. **Podpěra** Josef, prof. Uniwersytetu w Brnie.
17. **Schröter** Carl, dr., prof. em. Politechniki w Zurychu.
18. **Sukaczew** Władimir Nikołajewicz, dr., prof. Instytutu Leśnego w Leningradzie.
19. **Velenovsky** Josef, dr., prof. Uniwersytetu w Pradze.
20. **Vouk** Valentin, dr., prof. Uniwersytetu w Zagrzebiu.

Członkowie zwyczajni (Membres ordinaires).

1. **Antoniewiczówna** Janina, dr., naucz. gimn. Warszawa, Grottgera 16-6. W.[1])
2. **Bańkowska-Falkowska** Helena, dr., adj. Szkoły Głównej Gosp. Wiejskiego, Skierniewice, Osada Pałacowa. W.
3. **Bassalik** Kazimierz, dr., prof. Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa, Uniwersytet, Zakład Fizjologji Roślin, Krakowskie Przedmieście 26/28. W.
4. **Bazarewski** Stefan, dr., prof. Uniwersytetu Stefana Batorego, Wilno. Zakretowa 1. Wi.
5. **Becker** Władysław, mag., asyst. Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa, Uniwersytet, Zakład Botaniki Ogólnej, Krak. Przedm. 26/28. W.
6. **Bogacki** Kamil, dr. med., Warszawa, Polna 70. W.
7. **Brzeziński** Józef Piotr, prof. Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków, Al. Królewska 48. K.
8. **Brzeziński** Kazimierz, dyr. Szkoły Ogrodniczej, Lwów, Zamarstynów. L.
9. **Chmielewski** Zdzisław, dr., Kraków, św. Jana 5. II. p. Zw. Ziemian. K.
10. **Chodzicki** Edward, dr., asyst. Szkoły Głównej Gosp. Wiejskiego, Warszawa, Hoża 74. W.
11. **Cygowa** Tekla, dr., naucz. gimn., Warszawa, Chmielna 57. W.
12. **Czeczottowa** Anna, Warszawa, Zakład Systematyki Roślin Uniwersytetu Warszawskiego, Al. Ujazdowska 6/8. K.
13. **Danielewicz** Leon, dyr. Ogrodów Miejskich, Warszawa, Ogród Saski. W.
14. **Dąbkowska** Irena, Lwów, św. Mikołaja 4. L.
15. **Dąbrowski** Wacław, dr., prof. Szkoły Głównej Gosp. Wiejskiego, Warszawa, Miodowa 23. W.
16. **Deryng** Jakób, mag., insp. Ogrodu Farm., Warszawa, Uniwersytet, Zakład Farmakognozji, Krakowskie Przedmieście 26/28. W.
17. **Dobrowolski** Jan, dr., prof. Uniwersytetu Poznańskiego, Poznań, ul. Słowackiego 4/6. III. p. P.
18. **Domaniewska** Irena, dr. Warszawa. K.
19. **Dyakowska** Jadwiga, dr., Kraków, Kochanowskiego 19. I. p. K.
20. **Dyakowski** Bohdan, prof., Kraków, Kochanowskiego 19. I. p. K.
21. **Dziubałtowski** Seweryn, dr., prof. Szkoły Głównej Gosp. Wiejskiego, Warszawa, Rakowiecka 8 D. W.
22. **Filewicz** Władysław, dr., właściciel dóbr Sinołęka przez Sosnowo. W.
23. **Flancerówna** G., mag., asyst. Uniwersytetu Warszawskiego. Warszawa, Uniwersytet, Zakład Fizjologji Roślin, Krakowskie Przedmieście 26/28. W.
24. **Garbowski** Ludwik, dr., kier. Wydziału Chorób Roślin Państwowego Instytutu Rolniczego, Bydgoszcz, Zacisze 8. W.
25. **Gayówna** Delfina, naucz. szkoły powsz., Warszawa, Polna 40-7. W.
26. **Golińska** Jadwiga, dr., asyst. Szkoły Głównej Gosp. Wiejskiego, Skierniewice, Osada Pałacowa. W.
27. **Gorczyński** Tadeusz, dr., asyst. Szkoły Głównej Gosp. Wiejskiego, Warszawa, Rakowiecka 8 D. W.
28. **Gorjaczkowski** Włodzimierz, dr., prof. Szkoły Głównej Gosp. Wiejskiego, Warszawa, Marszałkowska 31-20. W.
29. **Górski** Franciszek, dr., Kraków, Al. Krasińskiego 14. K.

---

[1]) Litery te za nazwiskami członków oznaczają oddział, do którego należy dany członek; K=Kraków L=Lwów, P=Poznań, W=Warszawa. Wi=Wilno.

30. **Grochowski** Wacław, mag., Warszawa, Dzika 65. W.
31. **Hausbrandt** Jan, inż., Nadleśnictwo Grodzisko w Zagórzu, poczta Kłobuck. W.
32. **Herszlikówna** Alina, Łódź, św. Andrzeja 7. K.
33. **Hirszbergowa** Wanda, dr., Andrzejów, poczta Bolesławów pod Łodzią. W.
34. **Hoser** Piotr, dr. h. c., prof. Szkoły Głównej Gosp. Wiejskiego, Warszawa, Al. Jerozolimska 45. W.
35. **Hryniewiecki** Bolesław, dr., prof. Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa, Al. Ujazdowskie 6/8. W.
36. **Jankowski** Edmund, dr. h. c., prof. Szkoły Głównej Gosp. Wiejskiego, Warszawa, Warecka 14. W.
37. **Janowski** Bronisław, prof. Akademji Weterynaryjnej, Lwów, Kochanowskiego 63. L.
38. **Jarocki** Jerzy, dr., asyst. Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa, Uniwersytet, Zakład Zoologiczny, Krakowskie Przedmieście 26/28. W.
39. **Jedliński** Władysław, prof. Szkoły Głównej Gosp. Wiejskiego, Warszawa, Hoża 74. W.
40. **Józefowiczówna** Marja, inż., asyst. Szkoły Głównej Gosp. Wiejskiego, Skierniewice, Osada Pałacowa. W.
41. **Juraszkówna** Helena, dr., Warszawa, Służewska 4—9. W.
42. **Karpowiczówna** Wanda, dr., naucz. gimn.,Warszawa, Śniadeckich 6—18. W.
43. **Kasprzycka** Marja, inż., Wilno, Wielka 23. Wi.
44. **Kaznowski** Kazimierz, prof. gimn., Kielce, plac Wolności 6. K.
45. **Kleistówna** Katarzyna, dr., naucz. gimn., Warszawa, Nowogrodzka 48. W.
46. **Kloska** Jan, nacz. Wydz. Depart. Leśnictwa, Warszawa, Senatorska 15. W.
47. **Klot** Czesław, Warszawa, Ludna 11. W.
48. **Kobendza** Roman, dr., insp. Ogrodu Botanicznego, Warszawa, Al. Ujazdowska 6/8. W.
49. **Kochman** Józef, dr., Zakład Fytopatologji, Warszawa, Hoża 74. K.
50. **Koczorowska** Julja, mag., Warszawa, Szustra 21. W.
51. **Koepsch** Hans, mag., Mysłowice, Stara Apteka Miejska. K.
52. **Kołodziejczyk** January, dr., Warszawa, Krucza 40—6. W.
53. **Konopacka** Wanda, inż., asyst. Szkoły Głównej Gosp. Wiejskiego, Warszawa, Hoża 74. W.
54. **Korczewski** Michał, dr., prof. Szkoły Głównej Gosp. Wiejskiego, Warszawa, Rakowiecka 8. W.
55. **Kostecki** Edward, dr., Warszawa, Hoża 25—7. W.
56. **Kozłowska** Aniela, dr., doc. Uniwersytetu Jagiellońskiego, Katowice, Muzeum Śląskie. K.
57. **Kozłowski** Antoni, dr., Warszawa, Filtrowa 73 m. 24. K.
58. **Krasińska** Zofja, dr., asyst. Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa, Uniwersytet, Zakład Fizjologji Roślin, Krakowskie Przedmieście 26/28. W.
59. **Krawiec** Feliks, mag., asyst. Uniwersytetu Poznańskiego, Poznań, Słowackiego 4/6 I. p. P.
60. **Król** Ignacy, prof. gimn., Kraków, Konarskiego 20. K.
61. **Krukowski** Marjan, inż., Bydgoszcz, Ossolińskich 6. W.
62. **Krupko** Stefan, dr., adj. Uniw. Warsz., Warszawa, Al. Ujazdowska 6/8. W.
63. **Krzemieniewska** Helena, Lwów, Długosza 5. L.
64. **Krzemieniewski** Seweryn, dr., prof. Uniwersytetu Jana Kazimierza, Lwów, Długosza 5. L.

65. **Kulczyński** Stanisław, dr., prof. Uniwersytetu Jana Kazimierza, Lwów, św. Mikołaja 4. L.

66. **Kulesza** Witold, dr., zast. prof. Uniwersytetu Poznańskiego, Poznań, Sołacz — Dwór. P.

67. **Lachertowa** Irena, mag., Warszawa, Katowicka 9. W.

68. **Lebensbaumówna** Janina, mag., Warszawa, Próżna 14. W.

69. **Leśniewski** Apolinary, ks. dyr. gimn., Włocławek, Gimn. im. Długosza. K.

70. **Lewoniewska** Stanisława, inż. dr., Kraków, Al. Mickiewicza 21. K.

71. **Lilpop** Jerzy, dr., kustosz Muzeum Komisji Fizjograficznej, Muzeum Fizjograficzne Polskiej Akademji Umiejętności, Kraków, Sławkowska 17. K.

72. **Listowski** Anatol, dr., Dębica, Hodowla Ziemniaków W. Dołkowskiego i E. Raczyńskiego. K.

73. **Lublinerówna** Karolina, dr., Warszawa, Zgoda 9. W.

74. **Łukaszewicz** Józef, prof. Akademji Handl., Kraków, Sienkiewicza 2. K.

75. **Makowiecki** Stefan, red. „Czasopisma Ogrodniczego", Lwów, Kopernika 20. L.

76. **Malinowski** Edmund, dr., prof. Szkoły Głównej Gosp. Wiejskiego, Skierniewice, Osada Pałacowa. W.

77. **Matlakówna** Marja, dr., Lwów. Pijarów 11. L.

78. **Marchewianka** Marja, dr., Łódź, Traugutta 14. K.

79. **Maślankiewiczowa** Zofja, dr., Kraków, Sienkiewicza 2, III p. m. 5. K.

80. **Maurizio** Adam, dr, prof. Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa, Akademicka 3–36. W.

81. **Mazurkiewicz** Władysław, dr., prof. Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa, Brzozowa 12. W.

82. **Miczyński** Kazimierz, dr., adj. Politechniki, Dublany koło Lwowa. L.

83. **Miklaszewski** Jan, dyr. Dep., Warszawa, Poznańska 16—6. W.

84. **Milewska** Weronika, Wilno, Wiwulskiego 22 m. 1. Wi.

85. **Mokrzecki** Zygmunt, prof. Szkoły Głównej Gosp. Wiejskiego, Skierniewice, Osada Pałacowa. W.

86. **Moldenhawer** Konstanty, dr. doc., Motycz, Wojew. Lubelskie. K.

87. **Mondelska** Jadwiga, dr., Leszno, Seminarjum Nauczycielskie. P.

88. **Motyka** Józef, dr., adj. Uniw. Jana Kazimierza, Lwów, Cetnerowska 54. L.

89. **Muszyński** Jan, dr., prof. Uniw. Stefana Batorego, Wilno, Zakretowa 23. Wi.

90. **Moycho** Wacław, dr., adj. Szkoły Gł. Gosp. Wiejsk., Warszawa, Polna 32. W.

91. **Nałęczówna** Janina, inż., Witkowice koło Krakowa, Zakład. K.

92. **Niklewski** Bronisław, dr., prof. Uniwersytetu Poznańskiego, Poznań, Sołacz — Dwór. P.

93. **Nowiński** Marjan, dr., Tryńcza koło Przeworska. K.

94. **Ossowski** Antoni, dr., adj. Uniw. Warsz., Warszawa, Zajęcza 7—25. W.

95. **Ostrowski** Stefan, inż., Suchedniów, Ziemia Kielecka. W.

96. **Paszewski** Adam, dr., asyst. Uniw. Poznańskiego, Poznań, Sołacz — Dwór. P.

97. **Pawłowski** Bogumił, dr., doc. Uniw. Jagiell., Kraków, Kopernika 27. K.

98. **Piech** Kazimierz, dr., doc. Uniw. Jagiellońskiego, Kraków, Filipa 23. K.

99. **Płoski** Witold, inż., dr. Kier. Gosp. Dośw. Uniwersytetu Jagiellońskiego, Mydlniki koło Krakowa. K.

100. **Proner** Mieczysław, dr., asyst. Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa, Uniw. Zakład Farmakognozji, Krakowskie Przedmieście 26/28. W.

101. **Przyborowski** Józef, dr., doc. Uniw. Jagiell., Kraków, Łobzowska 24. K.

102. **Ptaszycki** Mieczysław, Warszawa, Uniwersytecka 6—5. W.
103. **Ralski** Edward, inż. dr., Kraków, Al. Mickiewicza 21. K.
104. **Riemer** Jan, dr., prof. Wyższej Szkoły Handl., Warszawa, Rakowiecka 6. W.
105. **Rogoziński** Andrzej, inż. dr., Kraków. K.
106. **Rosiński** Józef, nacz. Dep. Leśnictwa, Warszawa, Poznańska 16—20. W.
107. **Różański** Marceli, dr., kier. Sekcji Nasion Centralnego Tow. Roln., Warszawa, Kopernika 30. W.
108. **Rouppert** Kazimierz, dr., prof. Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków, Al. Mickiewicza 21. K.
109 **Rutkiewicz** Bohdan, dr., prof. Uniw. Lubelskiego, Lublin, Uniwersytet. K.
110. **Schwarz** Adam, inż., prof. Szkoły Głównej Gosp. Wiejskiego, Warszawa, Miodowa 23. W.
111. **Sieleżyński** Józef, inż., radca Min. Roln., Warszawa, Reja 5—2. W.
112. **Siemaszko** Wincenty, dr., prof. Szkoły Głównej Gosp. Wiejskiego, Warszawa, Hoża 74. W.
113. **Sienicka** Antonina, dr., asyst. Uniwersytetu Stefana Batorego, Wilno, Zakretowa 23. Wi.
114. **Skalińska** Marja, dr., prof. Wolnej Wszechnicy, Warszawa, Opaczewska 2a. W.
115. **Skupieński** Franciszek, dr., doc. Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa, Uniwersytet, Zakład Botaniki Ogólnej, Krakowskie Przedmieście 26/28. W.
116. **Smólska** Anna, Warszawa, Chłodna 64. W.
117. **Sokołowski** Marjan, dr., doc. Uniwersytetu Jagiellońskiego, Warszawa, Zakład Hodowli Lasu, Miodowa 23. K.
118. **De Soó Ralph**, dr., prof. Uniwersytetu, Debreczyn, Uniwersytet. K.
119. **Starmachowa** Bolesława, dr., Kraków, Długa 43 III p. K.
120. **Starmach** Karol, dr., Kraków, Długa 43 III p. K.
121. **Staniszkis** Witold, prof. Szkoły Głównej Gosp. Wiejskiego, Warszawa, Lwowska 8. W.
122. **Stecki** Konstanty, dr., prof. Uniwersytetu Poznańskiego, Poznań, Sołacz — Dwór. P.
123. **Stec-Rouppertowa** Wila, Kraków, Al. Mickiewicza 21. K.
124. **Stelmachówna** Marja, naucz. gimn., Sosnowiec, Gimn. Państw. im. E. Plater. K.
125. **Strzemieński** Kazimierz, dr., doc. Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków, Al. Mickiewicza 21. K.
126. **Sulma** Tadeusz, dr., Kraków, Lubicz 46. K.
127. **Sypniewski** Józef, kier. Wydziału Hodowli Roślin w Państwowym Instytucie Gosp. Wiejskiego, Puławy, Instytut. W.
128. **Szaferowa** Janina, dr., Kraków, Lubicz 46. K.
129. **Szafer** Władysław, dr., prof. Uniw. Jagiell., Kraków, Lubicz 46. K.
130. **Szafran** Bronisław, dr., Lwów, Stacja Bot. Roln, Zyblikiewicza 40. K.
131. **Szafranówna** Helena, Poznań, ul. Różana, Szkoła Wydziałowa. P.
132. **Szakien** Bronisław, dr., asyst. Uniwersytetu Stefana Batorego, Wilno, Zakretowa 23. Wi.
133. **Szeliga Mierzejewski** Władysław, dr., prof. Uniw. Stefana Batorego. Wilno, Zakretowa 23. Wi.
134. **Szmidecki** Wincenty, mec., Warszawa, Dobra 31—9. W.
135. **Szteinbok** Karol, Warszawa, Kapucyńska 7. W.
136. **Szulczewski** Jan, Poznań, Poznańska 58. P.

137. **Szymkiewicz** Dezydery, dr., prof. Politechniki, Lwów, Nabielaka 22. L.
138. **Teleżyński** Henryk, dr.. Warszawa, Uniw. Zakład Botaniki Ogóln., Krakowskie Przedmieście 26/28. W.
139. **Trela** Jan, dr., Kraków, Al. Mickiewicza 21. K.
140. **Trzebiński** Józef, dr., prof. Uniw. Stefana Batorego, Wilno, Zakretowa 23. Wi.
141. **Tschirschnitzówna** Marja, mag., naucz. gimn., Warszawa, Sandomierska 23—1. W.
142. **Turowska** Irena, dr., Kraków, Zakład Bot. Farm., Skałeczna 10. K.
143. **Vorbrodt** Władysław, dr., prof. Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków, Al. Mickiewicza 21. K.
144. **Walas** Jan, dr., Kraków, Kopernika 27. K.
145. **Wallisch** Karol, dr., Katowice, Muzeum Śląskie. K.
146. **Wałek-Czernecka** Anna, dr., Warszawa, Nowy Zjazd 5. W.
147. **Waśniewski** Stanisław, dr., Więcławice, poczta Inowrocław. K.
148. **Wiadrowski** Adam, Kraków, Florjańska 7 II p. K.
149. **Wierdak** Szymon, dr., prof. Politechniki, Lwów, Marka 1. L.
150. **Wilczyński** Tadeusz, dr., Lwów, Rutowskiego 18. L.
151. **Wiśniewski** Piotr, dr., prof. Uniw. Stefana Batorego, Wilno, Zakretowa 23. Wi.
152. **Wiśniewski** Tadeusz, dr., asyst. Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa, Mickiewicza 16—13. W.
153. **Witanowski** Witold, dr., prof. Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków, Zakład Farmakogn., Grzegórzecka 16. K.
154. **Wodziczko** Adam, dr., prof. Uniwersytetu Poznańskiego, Poznań, Słowackiego 4/6. II p. P.
155. **Wołoszyńska** Jadwiga, dr., prof. Uniwersytetu Jagiellońskiego, Zakład Bot. Farm., Skałeczna 10. K.
156. **Wóycicki** Stanisław, dr., asyst. Politechniki Warszawskiej, Warszawa, Wspólna 16. W.
157. **Wóycicki** Zygmunt, Mag., prof. Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa, Uniwersytet, Zakład Botaniki Ogólnej, Krakowskie Przedmieście 26/28. W.
158. **Wróblewski** Antoni, dr., Ogr. Fund. Kórnickiej, Kórnik, Zakłady Fundacji Kórnickiej. P.
159. **Zabłocka** Wanda, dr., Kraków, Al. Mickiewicza 21. K.
160. **Zabłocki** Jan, dr., doc. Uniw. Jagiellońskiego, Kraków, Mickiewicza 21. K.
161. **Załęski** Edmund, inż., prof. Uniw. Jagiell., Kraków, Łobzowska 24. K.
162. **Zalewska** Zofja, dr., naucz. gimn., Warszawa, Puławska 67—9. W.
163. **Zamels** Aleksander, dr., doc. Uniwersytetu Stefana Batorego, Wilno, Zakretowa 23. Wi.
164. **Ziembianka** Marja, naucz. gimn., Kraków, Lubicz 46. K.
165. **Ziobrowski** Stefan, dr., Kraków, Józefińska 23 I p. K.
166. **Zweigbaumówna** Zofja, dr., asyst. Szk. Gł. Gosp. Wiejsk., Warszawa, Bagatela 3. W.
167. **Żurawska** Helena, prof. Semin. Naucz., Lwów, Krasińskiego 30. L.

Członkowie nadzwyczajni. (Membres extraordinaires).

1. **Adlerówna** Zofja, naucz. gimn., Warszawa, Twarda 20—6. W.
2. **Allerhand-Speiserowa** Cecylja, prof. Seminarjum Naucz., Złoczów, Elektrownia. L.

3. **Amouraux** Marja, mag. fil., naucz. gimn., Kraków, Zwierzyniecka 17. K.
4. **Bagieńska** Marja, naucz., Wilno, Witoldowa 34. Wi.
5. **Badjan** Jan, dr., asyst. Uniw. Jana Kazimierza, Lwów, Snopkowska 39. L.
6. **Baziak** Stanisław, inż., Starożreby, Zakład Doświadczalny. K.
7. **Beckerowa** Zofja, stud. Uniw. Warsz., Warszawa, Uniw. Zakład Bot. Ogóln., Krak. Przedmieście 26/28. W.
8. **Beutler** Edward, stud. Uniw. Warsz., Warszawa, Wspólna 14—39. W.
9. **Bętkowski** Walery, asyst. Uniw. Jana Kazimierza, Lwów, św. Mikołaja 4. L.
10. **Białkówna** Kazimiera, naucz. gimn. w Żywcu. Żywiec, Kościuszki. K.
11. **Białous** Franciszek, prof. gimn., Lwów, św. Mikołaja 4. L.
12. **Bohdanowicz** Karol, prof. gimn., Wilno, Wielka Pohulanka 33. Wi.
13. **Bremówna** Marja, mag. fil., Kraków, Długa 34 II p. K.
14. **Borowicki** Stanisław, stud. leśn. Uniw. Poznańskiego, Poznań, Wały Leszczyńskiego 6. P.
15. **Bukowiecki** Henryk, mag. farm., asyst. Uniw. Warsz., Warszawa, Uniw. Zakł. Farmakognozji, Krak. Przedmieście 26/28. W.
16. **Burbianka** Marja, mag. fil., Warszawa, Uniw. Zakł. Fizj. Rośl., Krak. Przedmieście 26/28. W.
17. **Bursa** Adam, Kraków, II. Dom Akademicki. K.
18. **Cholewińska** Bronisława, inż. ogr., Warszawa, Bagatela 3. W.
19. **Chrostowski** Bronisław, inż., Kraków, Al. Mickiewicza 21. K.
20. **Chrupczałowska** Stanisława, Warszawa, Nowogrodzka 31—4. W.
21. **Czarnocka** Anna, naucz., Wilno, Antokol 61a. Wi.
22. **Czarnowska** Paulina, Warszawa, Szopena 4—2. W.
23. **Czarnówna** Zofja, naucz. gimn., Tarnów, Zyblikiewicza 1 I p. K.
24. **Daniewska-Strankowska** Halina, mag., Warszawa, Nowowiejska 4—6. W.
25. **Danowska** Aniela, Poznań, Wspólna 39 m. 5. P.
26. **Dobrzańska** Jadwiga, naucz. gimn., Nowy Bytom, Gimnazjum. K.
27. **Domagalski** Władysław, Poznań, Bukowska 1 m. 18. P.
28. **Drabicki** Bartłomiej, naucz. gimn., Ostrołęka, Gimnazjum Państwowe. K.
29. **Dubis** Władysław, stud. Uniw. Jana Kazimierza, Lwów, św. Mikołaja 4. L.
30. **Duda** Oktawian, prof. Sem. Naucz., Żółkiew, Seminarjum. L.
31. **Dzikowski** Bohdan, inż., Warszawa, Stacja Oceny Nasion, Krakowskie Przedmieście 64. W.
32. **Dziubałtowska** Eugenja, Warszawa, Rakowiecka 8 D. W.
33. **Edelszteinówna** Rachela, stud. Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa, Miła 49—74. W.
34. **Epsteinówna** Estera, mag., Warszawa, Pańska 45—5. W.
35. **Ernest** Kazimierz, asyst. Pol., Lwów, Nabielaka 22. L.
36. **Faszczewska** Romana, naucz. gimn., Jordanów, Semin. Koedukacyjne. K.
37. **Federowiczowa** Irena, naucz., Warszawa, Chłodna 3—4. W.
38. **Flancówna** Pelagja, stud. Uniw. Warszawskiego, Warszawa, Górnośląska 14 p. 343. W.
39. **Froehlich** Eugenjusz, Kraków, Lubicz 46. K.
40. **Fuja** S. Marja Kalasancja, dr., Warszawa, Poczta Główna, Skrzynka Nr. 24. K.
41. **Gajewski** Wacław, stud. Uniw. Warsz., Warszawa, Natolińska 8. W.
42. **Gawłowska** Marja, Kraków, Pułaskiego 15. K.
43. **Gąsiorowska** Zofja, naucz., Warszawa, Obożna 8—7. W.

44. **Goetz** Józef, inż., Poznań, Sołacz-Dwór. P.
45. **Goldmanówna** Nojma, mag., naucz., Białystok, Polna 19—3. Wi.
46. **Gołaszewska** Zofja, stud. Uniw. Warsz., Pruszków, Owocowa 19. W.
47. **Gołaszewski** Leon, inż., Targowiska (Woj. Lwowskie). K.
48. **Gotfalska** Aniela, naucz. gimn., Warszawa, Sienna 20—15. W.
49. **Grabowska** Kazimiera, naucz. gimn., Warszawa, Kanonja 8. W.
50. **Grochowski** Tadeusz, kier. Zakł. Ogr., Fredrów, p. Rudki. L.
51. **Grondalczyk** Ludwik, Kraków-Podgórze, Dąbrowskiego 3 II p. K.
52. **Grossmanówna** Cecylja, naucz. gimn., Szymanów pod Warszawą, Klasztor. W.
53. **Grzymirska** Helena, dr., asyst. Uniw. Jana Kazimierza, Lwów, Domsa 4. L.
54. **Gwizda** Gwido, Jabłonka-Dwór, poczta Brzozów. K.
55. **Haciska** Alina, inż., ogr., Warszawa, Bagatela 3. W.
56. **Hackiewiczówna** Mirosława, stud. Uniw. Warszawskiego, Warszawa, Śniadeckich 19—9. W.
57. **Held** Alicja, stud. Uniw. Warszawskiego, Inowrocław, Toruńska 7—5 (u p. Pfeiffer). W.
58. **Hirschberg** Leon, prof. gimn., Drohobycz, Mickiewicza 34. L.
59. **Hirschfeld** Marjan, Tarnopol, Lenartowicza 28. L.
60. **Hublówna** Romana, Lwów, Sobieskiego 5 II p. L.
61. **Iwanicki** Jeremi, asyst. Pol., Lwów, Paulinów 15. L.
62. **Jabłońska** Ita, mag., naucz., Warszawa, Nowolipie, 62. W.
63. **Jarmolińska** Halina, stud. Uniw. Warsz., Warszawa, Piękna 33—82. W.
64. **Jaroń** Bronisław, Kraków, Lubicz 46. K.
65. **Jaroszyńska** Irena, Warszawa, Trębacka 9—7. W.
66. **Jurkowski** Jan, Wilno, Sierakowskiego 4. Wi.
67. **Kaniewski** Karol, stud. Uniw. Warsz., Skierniewice, Jagiellońska 27. W.
68. **Kaszyński** Bronisław, stud. Uniw. Warszawskiego, Brudzew Kolski, pow. Brudzew. W.
69. **Kaufówna** Irena, Kraków, Plac Jabłonowskich 3 IV p. K.
70. **Kempistowa** Eugenja, Wilno, Zamkowa 24—5. Wi.
71. **Kielanowska** Marja, stud. Uniw. Warszawskiego, Warszawa, Czerniakowska 159—7. W.
72. **Kiełpiński** Jan, inż. Kraków, Al. Mickiewicza 21. K.
73. **Kleniewska** Felicja, mag., naucz. gimn., Warszawa, Nowy Świat 37 (u pp. Wojutyńskich). W.
74. **Klinghofer** Leon, dr., prof. gimn., Lwów, Łyczakowska 45. L.
75. **Klonowiecka** Teresa, stud. Uniwersytetu Jana Kazimierza, Lwów, Torosiewicza 45. L.
76. **Klopfer** Tadeusz, stud. Uniw. Warsz., Warszawa, Krucza 19—82. W.
77. **Kluzekówna** Aniela, Kraków, Sebastjana 7. K.
78. **Kłodzińska** Jadwiga, Kraków, Al. Mickiewicza 39 II p. K.
79. **Kłossowska-Malinowska** Zofja, asyst. Szk. Gł. Gosp. Wiejsk., Skierniewice, Osada Pałacowa. W.
80. **Kochańska** Irena, Tarnów, Krasińskiego 661. K.
81. **Kołodyńska** Olga, naucz. gimn., Łódź, Gimn. męsk. im. Bolesława Prusa, Narutowicza 58a. K.
82. **Konicówna** Zofja, naucz., Warszawa, Służewska 4—9. W.
83. **Koporska** Halina, naucz., Lublin, Krak. Przedmieście 20. W.

84. **Kopytowska** Elwira, stud. Uniw. Warsz., Warszawa, Widok 15—4. W.
85. **Kortówna** Janina, Kraków, Karmelicka 50 II p. K.
86. **Kosińska** Anna, Poznań, Poplińskich 11. P.
87. **Kostrakiewicz** Kazimierz, naucz. gimn., Kraków, Bosacka 30 I p. K.
88. **Kotkorowski** Władysław, insp. lasów, Wilno, Magdaleny 2. Wi.
89. **Kotowiczówna** Irena, Poznań, Grobla 14. P.
90. **Kowalikówna** Józefa, mag. fil., Kraków, Felicjanek 17 II p. K.
91. **Kowalska** Janina, Sanok, Seminarjum Żeńskie. K.
92. **Kozij** Grzegorz, asyst. Stacji Bot. Roln., Lwów, Zyblikiewicza 40. L.
93. **Krasicki** August Hr., właściciel dóbr, Lesko, p. Lisko. L.
94. **Kraus** Roman, dyr. Szk. Okr., Wilno, Sołtaniszki, Szkoła Ogrodnicza. Wi.
95. **Krynicka** Marja, Tarnowskie Góry, Nakielska 8. L.
96. **Kuczkowska** Halina, stud. Uniw. Warsz., Warszawa, Brzeska 14. W.
97. **Kudrzycka** Florentyna, dr., asyst. Uniw. Warszawskiego, Warszawa. Ogrodowa 56—31. W.
98. **Kuleszyna-Radwańska** Zofja, Warszawa, Czerniakowska 200—23. W.
99. **Kunisz** Stanisław, naucz. gimn., Pułtusk, Państw. Sem. Naucz. W.
100. **Kwiecińska** Janina, Warszawa, Służewska 5—23. W.
101. **Lebenbaum** Majer, stud. Uniw. Warsz., Warszawa, Chmielna 57—10. W.
102. **Lekczyńska** Jadwiga, asyst. Szk. Gł. Gosp. Wiejsk., Skierniewice, Osada Pałacowa. W.
103. **Leśniewska** Alicja, naucz. gimn., Warszawa, Czerwonego Krzyża 25—39. W.
104. **Limanowski** Mieczysław, dr., prof. Uniwersytetu Stefana Batorego, Wilno, Zakretowa 23. Wi.
105. **Liśkiewicz** Stanisław, dr, asyst. Uniwersytetu Stefana Batorego, Wilno, Zakretowa 23. Wi.
106. **Łastowski** Wacław, dyr. Stacji Dośw., Biniaków, Stacja Doświadczalna. Wi.
107. **Macieszyna** Marja, naucz. gimn, Płock, Sienkiewicza 23. K.
108. **Macko** Stefan, dr., Tarnów, Brodzińskiego 35. K.
109. **Majewski** Franciszek, dr., adj. Szk. Gł. Gosp. Wiejsk., Warszawa, Rakowiecka 8. W.
110. **Majorkiewiczówna** Marja, stud. Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa, Skrzelewska 18—5. W.
111. **Martyszewska** Janina, stud. Uniw. Warszawskiego, Warszawa, Uniw. Zakł. Fizj. Rośl., Krak. Przedmieście 26/28. W.
112. **Mączak** Antoni, instr. minist., Warszawa, Fredry 7. L.
113. **Mądalski** Józef, asyst. Uniw. Jana Kazimierza, Lwów, Cetnerowska 54. L.
114. **Michalewska** Stefanja, Kraków, Garbarska 13. K.
115. **Mierzwińska** Janina, Warszawa, Lwowska 6—25. W.
116. **Mieszczańska** Aniela, asyst. Uniw. Warszawskiego, Warszawa, Uniw. Zakład Bot. Ogóln., Krak. Przedmieście 26/28. W.
117. **Miketta** Janusz, Warszawa, Ludna 9—62. W.
118. **Mitka** Stanisław, naucz. Sem., Mielec, Seminarjm Naucz. Żeńskie. K.
119. **Modzelewska** Zofja, mag, naucz. gimn., Radomsko, Przedborska 35. W.
120. **Morawska** Janina, stud. Uniw. Warszawskiego, Warszawa, Żoliborz, Marymoncka 3—20. W.
121. **Mowszowicz** Jakób, Wilno, Ostrobramska 22—1. Wi.
132. **Nelkenówna** Halina, stud. Uniw. Warsz., Warszawa, Poznańska 14—3. W.

123. **Neuman** Teodor, stud. Uniw. Warszawskiego, Warszawa, Pługa 4. W.
124. **Niedziałkowski** Wacław, inż., Warszawa, Hoża 74. W.
125. **Niekraszówna** Anna, mag., asyst. Uniwersytetu Stefana Batorego, Wilno, Sióstr Miłosierdzia 8. Wi.
126. **Niewiadomska** Krystyna, Kraków, Siemiradzkiego 5. K.
127. **Niewieczeżałówna** Bożena, mag., naucz., Błonie, Szkoła Powszechna I. W.
128. **Nodzańska** Marja, Kraków, Zyblikiewicza 18 I p. K.
129. **Nowak** Mieczysław, inż., Kraków, Małopolskie Towarzystwo Rolnicze, Plac Szczepański 6. K.
130. **Nowakowska** Janina, Kraków, Berka Joselewicza 21. K.
131. **Nowakowska** Janina, Warszawa, Zielna 30—7. W.
132. **Nowicka** Jadwiga, Poznań, Słowackiego 4/6 II p. P.
133. **Obiezierska** Anna, Wilno, Szkolna Doświadczalnia, róg Zawalnej i Górzystej. Wi.
134. **Olszewski** Jan, inż., Niemenczyn, z. Wileńskiej, Nadleśnictwo. Wi.
135. **Ostrowska** Zofja, Kraków, Krowoderska 68. K.
136. **Oszastówna** Janina, Kraków, Kopernika 48. K.
137. **Pankiewicz** Stanisław, dyr. gimn., Wilno, Gimnazjum im. Lelewela. Wi.
138. **Passendorferowa** Stanisława, naucz. Seminarjum, Kraków, Konfederacka 14. K.
139. **Pater** Mateusz, prof. gimn., Sambor. L.
140. **Peknowa** Helena, Wilno, Bakszta, Hotel Nieszkowskiego. Wi.
141. **Petri** Kazimierz, prof. gimn., Lubawa (Pomorze), 19 Stycznia 4. L.
142. **Pietruszyńska** Anna, inż., asyst. Szkoły Gł. Gosp. Wiejsk., Warszawa-Praga, Siarczana 6. W.
143. **Piotrowska** Marja, mag., Warszawa, Zgoda 12—8. W.
144. **Piotrowska** Regina, stud. Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa, Koszykowa 48—20. W.
145. **Płoska** Alina, inż., Mydlniki koło Krakowa. K.
146. **Poluszyńska** Janina, dr., prof. gimn., Lwów, Kochanowskiego 8. L.
147. **Prywerówna** Czesława, inż., Warszawa, Swiętokrzyska 9—3. W.
148. **Przewalska-Karmazyńska** Halina, mag., Warszawa, Akademicka 3—26. W.
149. **Radomski** Jan, prof. gimn., Brześć n/Bugiem. L.
150. **Ralska** Magdalena, Kraków, Jabłonowskich 4. K.
151. **Reich** Leonard, dr., prof. gimn., Wilno, Wielka Pohulanka 14. L.
152. **Rewieński** Leon, naucz., Warszawa, Kopernika 16—16. W.
153. **Roguska** Sabina, stud. Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa, św. Wincentego 6. W.
154. **Rokita** Michał, naucz., Kraków, Czarnowiejska 31. K.
155. **Róg** Franciszek, naucz., Tarnów, Pułaskiego 39. K.
156. **Rydygierówna** Marja, mag. fil., Zawiercie. K.
157. **Sajdel** Adolf, inż., kier. Stacji Oceny Nasion, Warszawa, Krakowskie Przedmieście 64. W.
158. **Schulberg** Albert, Lwów, 3-go Maja 15. K.
159. **Seidl-Kahlowa** Olga, asyst. Uniwersytetu Jana Kazimierza, Lwów, Kochanowskiego 8. L.
160. **Seńkowski** Eugenjusz, Kraków, Senatorska 17. K.
161. **Sikorska** Jadwiga, stud. Uniwersytetu Warszawskiego, Warszawa, Koszykowa 53—34. W.

162. **Śledzińska** Marja, Kraków, Wiślna 8 II p. K.
163. **Sławiński** Kazimierz, prof. Uniwersytetu Stefana Batorego, Wilno, Nowogrodzka 22. Wi.
164. **Smoluchowska** Eryka, Poznań, Chełmońskiego 8. P.
165. **Sobolewska** Jadwiga, mag., naucz. gimn., Staszów, pow. Sandomierski, Krakowska 18. W.
166. **Sobolewska** Marja, Kraków, Jabłonowskich 9 III p. K.
167. **Sokołowska-Rutkowska** Irena, mag., naucz., Dubno, Wołyń, Szkoła Powszechna 92. Wi.
168. **Soroczyńska** Janina, Puławy, II-gi Baon Sap. Kaniowskich. W.
169. **Stachyowa** Janina, Lwów, Lindego. L.
170. **Stachyra** Tadeusz, Kraków, Al. Mickiewicza 21, Zakł. Bot. K.
171. **Stajgerwaldówna** Marja, mag., naucz. gimn., Warszawa, Górnośląska 14—243. W.
172. **Stankiewiczówna** Janina, dr., Warszawa, Żórawia 34—6. W.
173. **Środoń** Andrzej, Kraków, Lubicz 46. K.
174. **Susówna** Halina, Poznań, Marszałka Focha 112. P.
175. **Szajna** Adam, Kraków, Filipa 23 m. 2. K.
176. **Szczepanowska** Janina, Kraków, Plac Jabłonowskich 3 IV. p. K.
177. **Szejnman** Aleksander, stud. Uniw. Warsz., Piastów, Jasna 11—2. W.
178. **Szerszeń** Bogumił, Kraków, Al. Mickiewicza 21. K.
179. **Szołajska** Ewa, Kraków, Łobzowska 41 II p. K.
180. **Szymkiewiczowa** Janina, Lwów, Nabielaka 22. L.
181. **Szynal** Tadeusz, asyst. Pol., Lwów, Stryjska 58. L.
182. **Szwedowa** Zofja, mag., naucz. gimn., Warszawa, Żelazna 74—14. W.
183. **Teska-Demianowiczowa** Zofja, mag., naucz. gimn., Lublin, Okopowa 8—5. W.
184. **Tołpa** Stanisław, dr.. asyst. B. P. M. P., Lwów, św. Mikołaja 4. L.
185. **Tomasiewiczówna** Janina, Kraków, Konarskiego 7. K.
186. **Trzebiński** Stanisław, naucz. Szk. Ogr., Wilno, Sołtaniszki, Szkoła Ogrodnicza. Wi.
187. **Tuligłowicz** Mieczysław, asyst. Uniwersytetu Jana Kazimierza, Lwów, św. Mikołaja 4. L.
188. **Turska** Janina, asyst. Uniwersytetu Stefana Batorego, Wilno, Sierakowskiego 25—13. Wi.
189. **Tymrakiewicz** Włodzimierz, asyst. B. P. M. P., Lwów, św. Mikołaja 4. L.
190. **Tysowska** Marja, abs. Wydz. Matem. Przyr. Uniwersytetu Jana Kazimierza, Lwów, św. Mikołaja 4. L.
191. **Tyszkiewicz** Stanisław, inż., Zagórze, p. Kłobuck, pod Częstochową, Państwowa Szkoła dla Leśniczych. W.
192. **Twierdochlebow** Dymitr, prof. gimn.. Nieśwież, Gimnazjum. Wi.
193. **Urbanowiczówna** Kazimiera, dr., asyst. Uniwersytetu Stefana Batorego, Zakretowa 23. Wi.
194. **Wasilewska** Zofja, mag., naucz. gimn., Warszawa, Mochnackiego 4. W.
195. **Waszkiewiczówna** Zofja, Kraków, Smoleńsk 35. K.
196. **Wawszczakówna** Helena, Kraków, Plac Jabłonowskich 3 IV p. K.
197. **Wąsowicz** Tadeusz, inż., Kraków, Studencka 23 II p. K.
198. **Wechsler** Henryk, asyst. Uniw. Warszawskiego, Warszawa, Wspólna 44. W.
199. **Weissówna** Bronisława, naucz., Warszawa, Graniczna 6—27. W.

200. **Wendekerówna** Jadwiga, asyst. Uniwersytetu Jana Kazimierza, Lwów, św. Mikołaja 4. L.

201. **Wilczek** Rudolf, asyst. B. P. M. P., Lwów, św. Mikołaja 4. L.

202. **Wilczyńska** Helena, asyst. Uniwersytetu Poznańskiego, Poznań, Słowackiego 4/6 III p. P.

203. **Wiśniewska** Ewa, mag., Warszawa, Mickiewicza 16—13. W.

204. **Woźniakiewiczówna** Stanisława, Kraków, Lubomirskiego 7. K.

205. **Wysocka** Anna, stud. Uniw. Warsz., Warszawa, Przyokopowa 28—2. W.

206. **Zaleski** Karol, dr., adj. Uniw. Poznańskiego, Poznań, Sołacz-Dwór. P.

207. **Zdziechowska** Marja, stud. Uniw. Warszawskiego, Warszawa, Al. Ujazdowska 9—31. W.

208. **Znamierowska** Anna, naucz., Wilno, Zawalna 54—1. Wi.

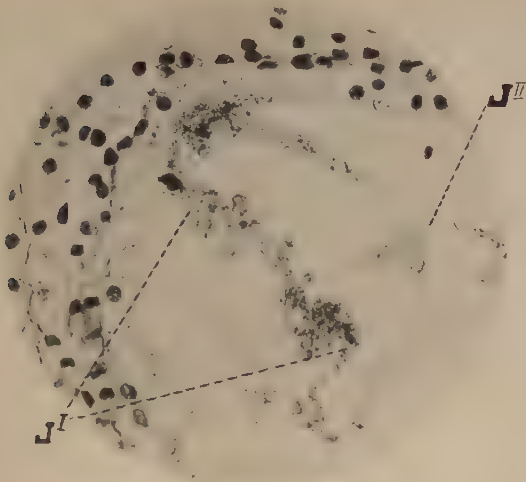
209. **Znaniecka** Marja, Psary, stacja Główno. W.

210. **Zub** Władysław, Lwów, Zyblikiewicza 40. L.

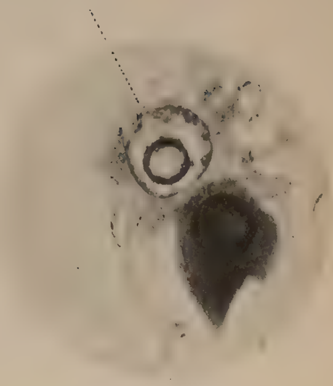
211. **Żegocki** Stanisław, naucz. gimn., Tomaszów Mazowiecki, Gimn. Zgrom. Kupców. W.

212. **Żukowska** Marja, stud. Uniw. Warsz., Warszawa, Mokotowska 15—11. W.

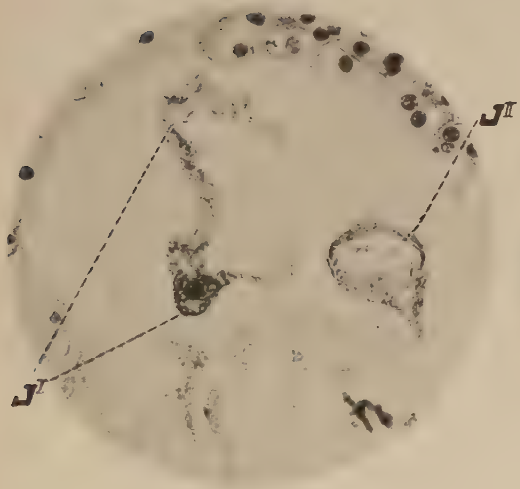
213. **Żuniakowa** Jadwiga, Warszawa, Mickiewicza 27 m. 69. K.



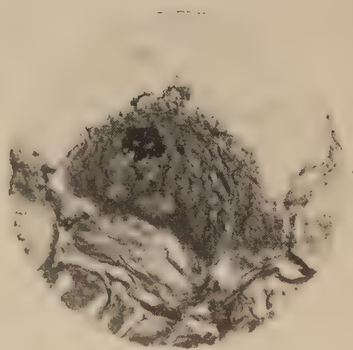
1



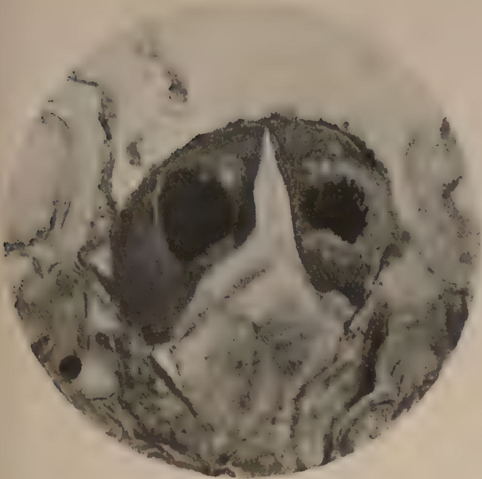
3



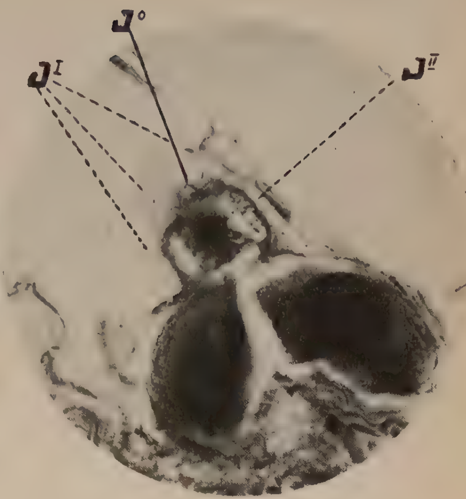
2



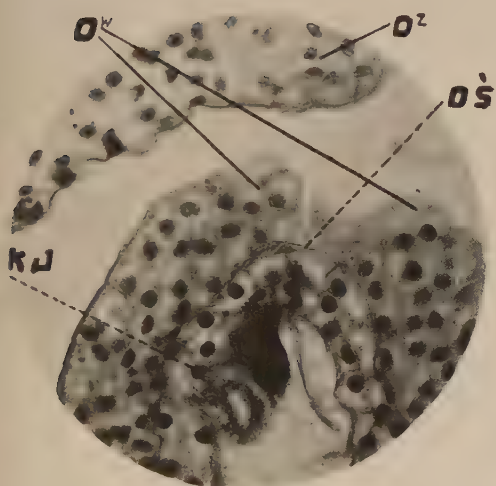
4



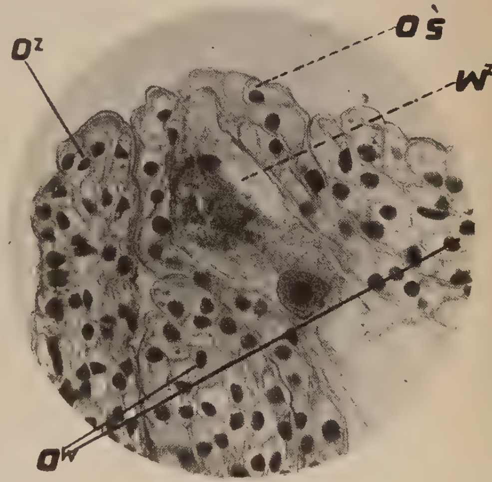
5



6



7



8



1



2



3



4



5



6



7



8



9



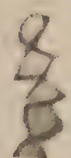
10



11



12



13



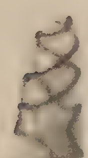
14



15



16



17

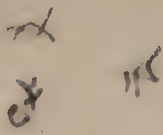


18



19

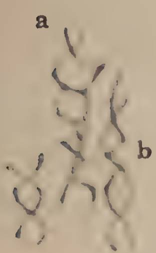

20


21


22


23


24



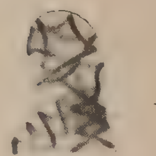
25



26

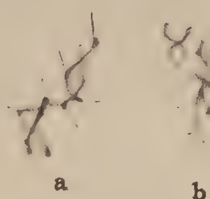

27


28


29


30


31



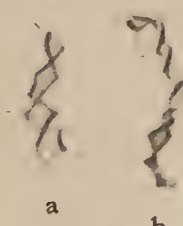
32



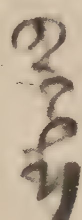
33


34


35



36


37



38


39


40



41


42


43


49


45


46


47


48


44


50


51


52


53


54


55


56


57


58


59


60


61

62

63

64

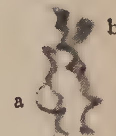
65

66


67

68

69

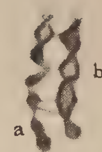
70


71


72

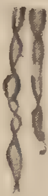
73

74

75


76


77

78

79

80

81